

Das von Ihnen für den 1. April 1900
eingereichte Gesuch ist dem
Landesrat für die Provinz
Pommern zur Kenntnis
gebracht worden. Der Landesrat
hat beschlossen, das Gesuch
dem Reichsausschuss für
den Handel und die Gewerbe
zu übersenden.

Die Landesregierung hat beschlossen,
das Gesuch dem Reichsausschuss für
den Handel und die Gewerbe
zu übersenden.

Die Landesregierung hat beschlossen,
das Gesuch dem Reichsausschuss für
den Handel und die Gewerbe
zu übersenden.

Die Landesregierung hat beschlossen,
das Gesuch dem Reichsausschuss für
den Handel und die Gewerbe
zu übersenden.

Die Landesregierung hat beschlossen,
das Gesuch dem Reichsausschuss für
den Handel und die Gewerbe
zu übersenden.

Die Landesregierung hat beschlossen,
das Gesuch dem Reichsausschuss für
den Handel und die Gewerbe
zu übersenden.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Medizinischen Fakultät der Universität München
(Lehrstuhl: Prof.Dr.W.Forth)
vorgelegt über
das Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
(Lehrstuhl: Prof.Dr.D.Hegner)

STOFFWECHSEL VON HEXACHLORBENZOL
BEI BEAGLEHUNDEN MIT PERMANENTEN GALLENGANGSKATHETERN
UND SEINE BEEINFLUSSUNG DURCH ORALE PARAFFINGABEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Claus Ferdinand Rembold

aus
Bad Waldsee

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. D. Hegner

Korreferent: Prof. Dr. D. Giesecke

Tag der Promotion: 24. Juli 1981



1. Introduction 1

2. Literature Review 2

3. Methodology 3

4. Results 4

5. Discussion 5

6. Conclusion 6

7. References 7

8. Appendix 8

9. Index 9

Meiner Familie

10. Zusammenfassung 10

11. Abstract 11

12. Introduction 12

13. Methodology 13

14. Results 14

15. Discussion 15

16. Conclusion 16

17. References 17

18. Appendix 18

19. Index 19

20. Zusammenfassung 20

21. Abstract 21

22. Introduction 22

23. Methodology 23

24. Results 24

25. Discussion 25

Inhaltsverzeichnis	Seite
A) Einleitung	1
B) Literaturteil	2
1. Chemische und physikalische Eigenschaften	2
2. Verwendung	3
3. Vorkommen in der unbelebten und belebten Natur	4
4. Gesetzliche Bestimmungen	15
5. Toxikologie	17
a) akute orale Toxizität	17
b) chronische Toxizität	17
c) Klinisches Vergiftungsbild	19
d) Pathologisch-anatomisches Vergiftungsbild	22
e) Biochemisches Vergiftungsbild	23
6. Stoffwechselverhalten von Hexachlorbenzol	27
a) Resorption	27
b) Biotransformation	27
c) Verteilung und Akkumulation	29
d) Ausscheidung	30
e) Therapiemöglichkeit	31
C) Eigenen Untersuchungen	34
1. Aufgabenstellung	34
2. Materialien	35
α) Reagentien	35
β) Geräte	36
3. Versuchstierhaltung	37
4. Operation	37
5. Hexachlorbenzol-Versuch	43
a) Herstellung der Kapseln mit HCB	43
b) Versuchsplan - Versuchsdurchführung	43

6. Analytische Meßmethoden	48
a) Bestimmung der Radioaktivität in Faeces, Galle, Vollblut und Plasma	48
b) Bestimmung der Radioaktivität im Urin	48
c) Gaschromatographische HCB-Bestimmung in Faeces- und Gallenproben	49
1. Vorbereitung und Reinigung von Ge- räten und Reagentien	49
2. Probenaufbereitung	49
3. Gaschromatographie	50
d) Gaschromatographische Bestimmung von HCB und seiner Metaboliten	50
7. Auswertung und Berechnung	51
a) Wiederauffindungsrate der GC-Analyse	51
b) Gaschromatographische Auswertung	52
c) Auswertung der Radioaktivität	55
d) Statistische Auswertungen	56
8. Ergebnisse	57
a) Versuchsverlauf	57
b) Versuchsergebnisse	60
I. Klinische Blutuntersuchungen	60
II. Verteilung und Ausscheidung der Radioaktivität während der In- vasion	70
III. Verteilung und Ausscheidung der Radioaktivität während der E- vasion	83
IV. HCB-Gehalt im Fett und in der Leber	99
V. Anteil von HCB an Radioaktivität in der Galle und den Faeces	99
VI. Metaboliten von HCB in Gallen- proben	101
D) Diskussion	107

E) Zusammenfassung - Summary 113

F) Literaturverzeichnis 116

A) E i n l e i t u n g

Hexachlorbenzol gehört in der Gruppe der organischen chlorierten Pestiziden zu den bedeutsamsten Rückstandsbildnern bei Mensch und Tier.

Die Hauptursachen dafür sind neben seiner weiten Verbreitung in der Umwelt, in seiner hohen Fettlöslichkeit und der geringen Metabolisierungsrate zu sehen.

Einmal aufgenommenes Hexachlorbenzol wird deshalb nur äußerst langsam wieder ausgeschieden.

Die Kontamination von Schlachttieren mit Hexachlorbenzol und das damit verbundene Übertreten der Höchst-mengenverordnung stellt die Landwirtschaft vor ein großes Problem. In den meisten Fällen ist es unwirtschaftlich das Absinken der Rückstände abzuwarten.

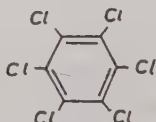
Auch bei chronischen Vergiftungsfällen beim Menschen ist es wünschenswert, die krankmachende Noxe so schnell wie möglich aus dem Körper zu eliminieren.

Aus diesen Gründen ist eine Beschleunigung der Ausscheidung durch orale Paraffingaben, wie sie bereits in einer früheren Untersuchung von Richter (136) an Ratten gezeigt wurde, von großer Bedeutung.

B) L i t e r a t u r t e i l

1. Chemische und physikalische Eigenschaften.

Hexachlorbenzol oder Perchlorbenzol wird im internationalen Sprachgebrauch kurz HCB bezeichnet. Es gehört zu den aromatischen Kohlenwasserstoffen und entsteht bei vollständiger Chlorierung von Benzol. Hexachlorbenzol hat die Bruttoformel C_6Cl_6 und folgende Strukturformel:



HCB ist eine farblose, kristalline (1), leicht sublimierbare Substanz (2). Ihr Schmelzpunkt liegt bei $231^{\circ}C$ und ihr Siedepunkt bei $323^{\circ}C$ bis $326^{\circ}C$. Der Dampfdruck beträgt $1,089 \times 10^{-5} mmHg$ bei $20^{\circ}C$ (2) und das Molekulargewicht beträgt 284,78 (3). HCB ist infolge seiner Apolarität lipophil bzw. hydrophob und ist deshalb praktisch unlöslich in Wasser. Es besitzt einen hohen Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten von $2,76 \times 10^6$ (4). Es löst sich deshalb gut in Benzol, Chloroform, Äther, Hexan und anderen organischen Lösungsmitteln (1,2,5). Gegenüber Basen und Säuren ist HCB gekennzeichnet durch seine hohe Reaktionsträgheit und bei Raumtemperatur ist es weitgehend stabil (2,5).

2. Verwendung.

Hexachlorbenzol wurde von Versin 1945 als Fungizid eingeführt (6). Vor allem findet es seither Verwendung als Saatgutbeizmittel für Getreide zur Verhinderung des Stinkbrandes, auch Steinbrand genannt (1,2,5,7,8,9). Die zur Ordnung Ustilaginales, Brandpilze, gehörenden Familien Ustilaginaceae und Tilletiaceae erzeugen die Brandkrankheiten der Getreidearten.

Tilletiaarten bilden in den Weizenkörnern kompakte Sporenhaufen. Ein von *Tilletia tritici* befallenes Weizenkorn enthält mehrere Millionen Brandsporen, die beim Dreschen des Getreides auf das Saatgut ausstäuben und in einer Keimlingsinfektion die jungen Keimpflanzen infizieren (10). Früher wurden 20%, manchmal bis zu 60% des Keimertrags zerstört. Jetzt werden die Brandkrankheiten erfolgreich behandelt, indem das Saatgut in mit HCB angereicherte Beizen gelegt wird. Auf diese Weise sollen in Italien jährlich rund 60.000 kg reinen Hexachlorbenzols in die Umwelt gelangen (11). Um einen ausreichend guten Getreideschutz zu erreichen, muß das Fungizid in der hohen Konzentration von 500 ppm angewandt werden (12). Hexachlorbenzol wird ebenso als Bodenbehandlungsmittel gegen Zwergbrand eingesetzt (8,13).

Die besonders in letzter Zeit steigende Umweltkontamination rührt allerdings weniger durch Gebrauch des HCB als Fungizid her, als vielmehr durch die Anwesenheit von HCB in industriellen Abfall- und Nebenprodukten. Es wird in der Kunststoff- und Reifenindustrie als Flammenschutzmittel verwandt und ist in den Abfällen von einigen dieser Prozesse mit einem Gehalt von 10 bis 15% enthalten. Es entsteht bei der Müllverbrennung, v.a. bei der Verbrennung von PVC-haltigem Material HCB ist Ausgangs- und Nebenprodukt bei der Herstellung

von chlorierten Kohlenwasserstoffen. Als Ausgangsprodukt findet es sich in technischem Pentachlorphenol, einem weit verbreiteten Holzimprägnierungsmittel und Molluskizid (14). HCB liegt auch als Verunreinigung in dem Herbizid Dacthal und in dem Fungizid Quintozen vor. Bis in die letzten Jahre hinein lag der Gehalt von HCB in diesen Pestiziden bei etwa 10%; jetzt machen es neue Produktionsmethoden möglich den Gehalt auf weniger als 0,5% zu senken. Man hat geschätzt, daß 7500 kg /Jahr HCB für den fungiziden Gebrauch produziert werden, während etwa 12.500 kg/Jahr als Verunreinigung von Dacthal und 700.000 kg als Verunreinigung von Quintozen produziert werden. In den verschiedenen Industrieprozessen sollen dagegen in den USA 2.150.000 kg HCB als unerwünschtes Nebenprodukt entstehen (15). Steinwandter und Brune fanden 1977 heraus, daß HCB keine natürlich auftretende Verbindung ist (16). Gelangt es aber einmal in die Ökosphäre, dann ist es sehr beständig. Die HCB-Kontamination ist in der pflanzlichen und tierischen Produktion aber wesentlich höher, als es den durch Pflanzenschutz der Landwirtschaft zugeführten Anwendungsmengen entsprechen würde; eine mögliche Quelle soll auch die Umwandlung des Lindans zu HCB in den Pflanzen sein (17,18).

3. Vorkommen in der unbelebten und belebten Natur.

Unter den Umweltchemikalien, d.h. Chemikalien, die unsere Umwelt wegen ihrer Gefährlichkeit stark belasten, nehmen die Pflanzenschutzmittel eine besondere Rolle ein.

Eichner stellte 1976 einen Vergleich zwischen den Gehalten von chlorierten Kohlenwasserstoffen und von polychlorierten Biphenylen in den Jahren 1973 bis 1975

Für das Bodenseewasser an und fand eine eindeutige Zunahme von HCB und PCB heraus, eine weniger starke Zunahme von α -HCH, während das γ -Isomer des HCH, das Lindan, beträchtlich abnahm.

Höchste Rückstände in Wasser (ppt HCB	- PCB (1972-75)
HCB	PCB
Baggersee	65 80
Bodensee	8 75
Rhein (Kehl)	200 65
Murg (Rheinzufluß)	135 120

(Literatur 19)

Eichner fand ebenso heraus, daß ein hoher Schlammanteil im Wasser durch sein Absorptionsvermögen in bezug auf die Pestizide reinigend wirkt. Dieses fehlt ja bei neu angelegten Baggerseen und kann rein optisch zu Fehlinterpretationen führen. Ferner stellte er fest, daß bei Gewässern mit Badebetrieb HCB und vor allem PCB in einer höheren Konzentration vorliegen, als in anderen gleichartigen Seen. Im Schlamm eines süddeutschen Fischteichs fand er 1,7 ppb. Im Schlamm und der Deicherde des Mississippis wurden Spitzenwerte um 900 ppb gefunden, während die Konzentration von Wasserproben unter 2 ppb lag (20).

Leoni und D'Arca (11) untersuchten 1969 bis 1973 120 Oberflächenwasserproben von verschiedenen Flüssen in Italien und fanden dabei, daß 108 (90%) mit HCB verseucht waren; von diesen enthielten 37 Proben (34,2%) weniger als 1 ppt, 69 Proben (63,8%) enthielten 1 bis 10 ppt und zwei Proben (1,8%) enthielten mehr wie 10 ppt. Dabei betrug im gleichen Zeitraum die durchschnittliche Verschmutzung 2,5 ppt bezogen auf alle Daten. Bei Untersuchungen des Rheinwassers in Holland wurden 98% der

Proben HCB in einer Konzentration von 10 bis 520 ppt festgestellt (21).

Zwischen 1976 und 1977 wurden M e e r e s t i e r e des tyrrhenischen und ionischen Meeres auf ihren HCB-Gehalt hin untersucht und der Höchstwert war 8,1 und der niedrigste Wert 0,1 ppb, bezogen auf das Frischgewicht (22) In Fischen aus den größeren Wassergebieten der USA fand man bei 19% aller Proben HCB (23). Die Konzentration reichte von weniger als 0,005 ppm bei 48% der Proben, bis zu einem Maximum von 11,6 ppm bei Aalen aus dem Altamaha River, Georgia. Fast 15% der 58 Proben enthielten mehr als 0,1 ppm HCB. 1979 konnte Niimi (24) bei drei Gattungen der salmartigen Fische des Ontario Sees (USA) folgenden HCB-Gehalt messen

Spezies	Anzahl	HCB im Gewebe(ppb)	
		Mittelwert	Standardabweichung
Seeforelle	14	80	± 23
Regenbogenforelle	15	62	± 24
Lachs	20	36	± 9

In Fischen aus dem Nordatlantik, der Nordsee und der Ostsee wurde die Speicherung von chlorierten Kohlenwasserstoffen untersucht(25). Dabei wurden Dorschleber, Dorschgonaden und Heringsgonaden erstmals auf HCB hin untersucht; man fand als höchsten Wert, der in der Dorschleber ermittelt wurde 0,225 ppm. In Heringsrogen fand man 0,008 ppm als höchsten Wert und in der Heringsmilch 0,004 ppm. 1975 untersuchte Schaefer et al (26) Fische, Polychaeten und Muscheln (zusammen acht Arten) auf ihren

Gehalt an DDT, DDD, DDE, PCB und HCB. Mengenmäßig über-
wogen die polychlorierten Biphenyle.

In schwedischen Gewässern fanden Noren und Rosen (27)
in einer Aalquappe in deren Leber einen HCB-Gehalt von
2,2mg/kg. Im Mississippi wurden Mosquitofische und
Hummer auf HCB untersucht und der Gehalt im gesamten
Körpergewebeextrakt belief sich von 71,8 ppb bis zu
einem Maximum von 379,8 ppb (20).

Johnson et al (28) geben einen Gehalt von HCB in Fischen
von verschiedenen Teilen der USA mit unter 150 ppb an,
mit einer Ausnahme, nämlich Karpfen, die möglichen
chemischen Industrieabfällen ausgesetzt waren von 62 ppm
HCB. HCB wurde ebenso in Fischen und Muscheln aus dem
Rhein gefunden (29), genauso wie in Küstenfischen in
Japan (30,31). Fische und Krabben aus den Gewässern um
Norwegen enthielten auch Rückstände; es wurde eine starke
Variationsbreite im HCB-Gehalt verschiedener Spezies
gefunden und zwar 0,07 ppm im Hering und 27,08 ppm
in der Flunder. Krabben, die aus dem Hafen stammten
und das andere Mal vom offenen Meer kamen, enthielten
11,2 bzw. 2,0 ppm(32).

Im Berliner Zoo wurde 1977 im Körperfett einiger Tiere
HCB gefunden (33). Dabei wurden folgende HCB-Gehalte
in ppm bezogen auf das Körpergewicht gefunden:

Sprotten	0,040 ppm
Seelefant	0,018 ppm
südafrik.Seebär	0,013 ppm
Eselpinguin	0,683 ppm
Baikalrobbe	0,009 ppm
Sardine	0,095 ppm
grüner Hering	0,023 ppm

Untersuchungen bei R a u b v ö g e l n ergaben ebenso mehr oder weniger hohe Konzentrationen an HCB.

Cromartie et al (34) untersuchte zwischen den Jahren 1971 und 1972 den weißköpfigen Seeadler in den USA. Tote und kranke Tiere wurden gesammelt. Als Durchschnittskonzentration wurden 0,30 ppm im Kadaver und 0,14 ppm in den Gehirnen von vier der zwölf untersuchten Vögel gemessen. Bei Raubvögeln in den Niederlanden, wurden Leberwerte des HCB zwischen 0,80 und 862 ppm gemessen und zwar bei Sperbern, Waldohreulen, Turmfalken und Bussarden (35,36). Koeman et al (37) untersuchten Kormorane, die in den Niederlanden tot gefunden wurden auf HCB-Rückstände. Der Gehalt im gesamten Körper lag zwischen 0,4 und 25 ppm bei einem Durchschnitt von 6,9 ppm. Die Durchschnittskonzentrationen in der Leber und im Gehirn dieser Vögel lagen bei 10,9 bzw. 18,0 ppm. Gesunde Tiere, die gefangen wurden um Kontrollwerte zu erhalten, hatten eine Gesamtkörperkonzentration von 0,63 ppm für erwachsene Vögel; für die Jungvögel lag die Konzentration bei 0,15 ppm. Auffallend war, daß diese Werte wesentlich niedriger waren, als die Werte, die bei den tot aufgefundenen Vögeln ermittelt wurden.

Auch die Eier wildlebender Vogelarten enthalten HCB. Eier der Seeschwalbe wurden in Kolonien am Westende des Ontario Sees gesammelt. Man fand eine durchschnittliche HCB-Konzentration von 7,67 ppm. Gilbertson et al (38) vermuten als Ursache dieses hohen HCB-Gehaltes die Kontamination kleiner Fische wie Heringe und des Stints, die die Nahrungsquellen dieser Vogelkolonie sind. 1971 hatten diese Seeschwalben ein schlechtes Brutergebnis und dementsprechend auch eine schlechte Schlupfrate. Die Quelle, die für die HCB-Kontamination verantwortlich war, wurde nicht gefunden, aber man

vermutete, daß die Verseuchung von einem landwirtschaftlichen Gebiet komme, wo mit gebeiztem Saatgut gearbeitet wurde. Bei Silbermöven fanden Gilbertson und Fox (39) 1974 eine vergleichbare Situation vor. Sie sammelten Eier dieser Vögel aus dem Großen Seen Gebiet der USA, da das Überleben der Embryonen und die Schlupfrate sehr niedrig waren. Analysen der Embryonen zeigten HCB-Rückstände in Höhe von 4,3 ppm.

In 43 Eiern von See-, Küsten- und einigen Landvögeln von den Falklandinseln und in 47 Eiern vergleichbarer Vögel aus Norddeutschland wurde der Gehalt an Organochlorpestiziden und polychlorierten Biphenylen quantitativ ermittelt. So fand man als Mittelwert in den Eiern der Vögel der Falklandinseln, so beim schwarzbraunen Albatros den Höchstwert mit 0,657 ppm und in den Eiern des Felsenpinguins den niedrigsten Wert mit 0,001 ppm. Die Eier von Vögeln aus Norddeutschland wiesen z.B. bei der Silbermöve den höchsten Wert mit 7,754 ppm auf, den niedrigsten Wert bei Eiern des Höckerschwanes mit 0,001 ppm auf. Die Eier von den Falklandinseln sind um ein Vielfaches schwächer kontaminiert, als die Vogeleier aus Norddeutschland. Die Werte auf den Falklandinseln sollen die globale Umweltbelastung widerspiegeln, wohingegen in Mitteleuropa unübersichtliche Verhältnisse vorherrschen und die verschiedenen Einflüsse auf die Umwelt nicht mehr faßbar und verfolgbar sind (40).

Conrad (41) untersuchte über 1500 Vogeleier und Kadaver auf ihren Grad an Verunreinigungen mit chlorierten Kohlenwasserstoffen und polychlorierten Biphenylen. Er stellte fest, daß von 976 untersuchten Vogeleiern von 62 Arten kein einziges Ei frei von Rückständen war. Besonders auf die Verhältnisse bei Greifvögeln, Eulen und Seevögeln legte er großen Wert, stehen sie

doch am Ende einer Nahrungskette.

So wie die Eier der Wildvögel HCB-Rückstände enthalten, so enthalten die Eier unserer H a u s h ü h n e r HCB-Rückstände (42). Man fand in 8% von 53 untersuchten Proben HCB. Bezogen auf die Fettbasis betrug die durchschnittliche HCB-Konzentration 0,1 ppm, der höchste Wert lag bei 0,13 ppm. Die Verfütterung von gebeiztem Saatgut an die Hühner stellt hier die Hauptkontamination dar (43). Müller und Korte (43) fanden in Eiern aus zwei Hühnerfarmen im süddeutschen Raum 0,01 bis 0,1 mg HCB/kg im Eigelb. Das in diesen Beständen verfütterte handelsüblich Legemehl enthielt 0,01 bis 0,02 ppm HCB. In einem Bauernhof fanden die gleichen Autoren in Hühnereiern einen Gehalt von 12 ppm HCB. Es stellte sich heraus, daß der Landwirt gebeizten Saatweizen verfüttert hatte.

Mittlerer Gehalt an HCB, DDE und PCB in verschiedenen Vogeleiern, ppm (bezogen auf das Trockengewicht) (41)

Vogelart	Anzahl	HCB	DDE	PCB
Seeadler	3	2,2	204,6	390,3
Sperber	78	12,4	63,0	111,2
Habicht	123	40,3	14,1	43,5
Wandermalke	40	24,4	70,4	73,1
Rohrweihe	17	4,2	91,8	107,4
Wiesenweihe	9	5,1	15,4	14,1
Turmfalke	35	4,4	7,6	29,4
Mäusebussard	29	2,8	3,4	11,9
Uhu	13	3,5	11,8	80,6
Schleiereule	49	2,5	2,8	27,5
Steinkauz	38	6,9	2,3	14,3
Silbermöve	33	1,0	1,0	25,9
Lachmöve	22	1,5	3,0	10,4
Weißstorch	29	2,0	6,5	27,5
Kiebitz	9	0,8	1,5	3,0
Kohlmeise	31	0,3	1,1	2,5

In W i l d s ä u g e r n wurden ebenso beachtenswerte Gehalte an HCB gefunden. Koss und Manz (44) berichten über HCB-Rückstände in Füchsen, in Wildschweinen und Rehen, die in ihrer natürlichen Umgebung gefangen wurden. Es wurde bei allen Tieren das subkutane Fettgewebe auf seinen HCB-Gehalt hin untersucht. Die mittlere HCB-Konzentration war bei 21 Füchsen mit 0,26 ppm und bei sieben Wildschweinen mit 0,41 ppm deutlicher als bei Rehen, von denen nur vier von sechs nachweisbare HCB-Rückstände mit einem mittleren Gehalt von 0,03 ppm hatten. Diese Unterschiede scheinen von den verschiedenen Futtergewohnheiten der Tiere zu stammen; so hat der Fuchs und das Wildschwein kleine Tiere wie Mäuse als Nahrung, die auch mit HCB kontaminiert sind, während das Reh ein Pflanzenfresser ist. Dies führt die Autoren zu der Feststellung, daß HCB in der Nahrungskette akkumuliert.

In den H a u s s ä u g e t i e r e n wie Rind, Schwein und Schaf sind ebenfalls HCB-Rückstände ermittelt worden (45). In den Jahren 1973 bis 1974 wurden Fleisch-, Organ- und Fettgewebsproben von Schweinen aus landwirtschaftlichen Betrieben Bayerns auf Pestizid- und Arsenrückstände untersucht (14). Bei 3731 Analysen von Bauchspeckproben auf chlorierte Kohlenwasserstoffe wurde der in der Höchstmengenverordnung festgelegte HCB-Toleranzwert 136 mal (3,65%) überschritten. Rinder, Schweine und Schafe im Einzugsgebiet der Schlachthöfe München und Ingolstadt wurden im Jahre 1978 auf HCB-Rückstände hin untersucht. Dabei fand man eine durchschnittliche Konzentration (bezogen auf Fettbasis) von 0,371 ppm in der Leber, 0,357 ppm in der Muskulatur und 0,169 ppm im Fettgewebe aller untersuchten Tiere, die unter der zulässigen Toleranzgrenze von 0,5 ppm bleiben (46).

Im Lämmern von Texas und Arizona wurden HCB-Rückstände über der Toleranzgrenze liegend gefunden (47). Von ausgesprochen hohen Rückstandswerten wurden im Fettgewebe und der Milch von Rindern, die in der Gegend von Louisiana (USA) gehalten wurden berichtet (20). Rinder aus 157 Herden untersuchte man auf HCB und 295 aller Rinder hatten HCB-Konzentrationen im Fett, die weit über dem gesetzlich erlaubten Höchstwert von 0,5 ppm lagen (47). Die hohe HCB-Belastung dieser Tiere stammte aus der Abfallbeseitigung von HCB-haltigem Müll. Die Tiere wurden in der Nähe dieser Mülldeponie gehalten. Analysenergebnisse von Bodenproben, die bei dieser Deponie genommen wurden, ergaben einen durchschnittlichen Gehalt von 5000 ppm HCB. Luftproben an derselben Stelle ergaben 14 ppb oder $16 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (20).

Es ist nicht verwunderlich, daß der Boden und die darauf wachsenden Pflanzen auch HCB speichern. Der Boden, der mit dem Bodenfungizid Quintozen behandelt wurde, enthielt meßbare Werte an HCB. Entsprechend dem Gehalt der vom Boden aufgenommen wurde, enthielten verschiedene Feldfrüchte und Pflanzenteile mehr oder weniger viel HCB. Der relativ niedrigste Gehalt im Frucht/Boden Verhältnis an HCB wurde bei den Spitzen und Blättern der Zuckerrübe gefunden mit zwischen 0,03 und 0,30 ppm. Für Teile von Gräsern, die mehr wie fünf Zentimeter über dem Boden wachsen sind Werte zwischen 0,001 und 0,14 ppm ermittelt worden. Eine sichere Akkumulation wird in Graswurzeln angenommen. So findet man beinahe in allen Pflanzen HCB, wobei die Konzentration von der Wurzel bis zur Spitze abnimmt (48,49,50,51,52). Johnson und Manske (53) berichteten über ein FDA Total Diet Program, die sogenannten "Markt-Korb-Analysen". Sie fanden zwischen den Jahren 1972 und 1974 in etwa

5% von gemischt zusammengesetzten N a h r u n g s - p r o b e n HCB-Rückstände und zwar in Konzentrationen von 0,3 bis 7,0 ppb. In Milch-, Geflügelprodukten, Fleisch, Fisch und im Wurzelgemüse (gelbe Rüben, rote Rüben, Zwiebeln etc.) wurde HCB am häufigsten entdeckt. Die Anwesenheit von HCB in nicht zubereiteten Nahrungsmitteln fanden Leoni et al (11) bei entsprechenden Untersuchungen von Proben aus der Gegend um Mailand und Neapel. Sie haben durchschnittliche HCB-Konzentrationen gemessen, die einer Aufnahme von 4,32 µg/Tag und Mensch entsprechen würde und 12% über dem ADI (acceptable daily intake) von der WHO gefordert lag. Bei zubereiteten Nahrungsmitteln entsprach die durchschnittliche HCB-Konzentration einer Aufnahme von 4,10 µg/Tag und Mensch, die 11,3% über der ADI lag.

Über HCB-Rückstände in F u t t e r m i t t e l n wird berichtet. Bei 30 Chargen eines Affenfutters, daß in zehn Monaten untersucht wurde, reichten die Rückstände von weniger als 1 ppb bis 21,1 ppm (54). Kallweit (55) untersuchte in den Jahren 1973 bis 1974 Einzelfuttermittel und Mischfuttermittel auf chlorierte Kohlenwasserstoffe und fand bei 4,47% aller Proben HCB über der gesetzlichen Deklarationspflicht von 0,02 ppm. Im Versuchstierfutter Altromin C wurden 0,02 ppm und im Schweinemastfutter 0,025 ppm gefunden (43). im Legemehl für Hühner wurden 0,02 bzw. 0,01 ppm HCB ermittelt (43).

Der M e n s c h, der am Ende einer Nahrungskette steht ist der HCB-Belastung durch kontaminierte Lebensmittel tierischer Herkunft, aber auch in Beruf und Umwelt ausgesetzt.

Acker und Schulte (56,57,58) entdeckten in der Bundesrepublik erstmals HCB in der Humanmilch und im menschlichen Fettgewebe, dessen Gehalt an chlorierten Kohlenwasserstoffen um zwei Größenordnungen höher liegt, als in den meisten Lebensmitteln. Sie

ermittelten im menschlichen Fettgewebe und in der Humanmilch HCB-Konzentrationen von 6,3 ppm im Fett und 5,3 ppm in der Milch bezogen auf den Fettgehalt. Spätere Untersuchungen geben die regionalen Unterschiede des HCB-Gehaltes in menschlichem Fettgewebe an. Proben aus der Gegend von Hamburg weisen einen HCB-Gehalt im menschlichen Fettgewebe von 5,9 ppm auf, Proben aus der Gegend von München 6,4 ppm.

Die Bevölkerung von Louisiana, deren Viehbestand einer hohen HCB-Belastung ausgesetzt war (20) wurde auf HCB-Rückstände untersucht. Die HCB-Konzentration im Plasma betrug im Durchschnitt 3,6 4,3 ppb bei Proben von 86 Personen. Den höchsten Gehalt mit 345 ppb hatte ein Müllarbeiter, wohingegen der höchste Gehalt bei der übrigen Bevölkerung bei 23 ppb lag. Männliche Personen hatten mit 4,71 ppb einen signifikant höheren Wert als weibliche Personen (2,79 ppb) (59).

In Bayern wurden Muttermilchproben untersucht und bei 81,8% aller Proben ein mittlerer HCB-Gehalt von 1,78 ppm bezogen auf den Fettgehalt gefunden (60).

In Muttermilchproben Westaustraliens fanden Stacey und Thomas (61) HCB Werte von 0,012 bis 0,034 ppm bezogen auf das Frischgewicht. Der HCB-Gehalt der Muttermilch in Frankreich beträgt 0,5 bis 3,5 ppm bezogen auf den Fettgehalt (62).

Routineuntersuchungen im Jahre 1975 von Pathologen in Belgien ergeben bei 60 Proben von menschlichem Körperfett eine durchschnittliche HCB-Konzentration von 1,36 ppm, wobei die höchste Konzentration bei 10,7 ppm lag (63). Ein Bericht von Blutuntersuchungen an 194 Kindern aus Bayern ergab klar, daß HCB in allen Proben gefunden wurde. Die durchschnittliche HCB-Konzentration lag bei 16,5 µg/kg. Der niedrigste Wert, in einem Ein-Jahr alten Kind gefunden, war 2,8 µg/kg (64). Siyali

(65) berichtete 1972 über den HCB-Gehalt im menschlichen Blut. Dabei fand er bei 52 Personen in Australien ohne besondere Exposition 22 ppb (0 bis 95) und bei 95% von 185 exponierten Personen 55,5 ppb (0 bis 410 ppb) im Blut.

4. Gesetzliche Bestimmungen.

1975 und 1976 überschritt Hexachlorbenzol als einziger Umweltkontaminant die Höchstmenge in frischem Fleisch um mehr als 10%. Die Folge davon war ein bundesweites Verbot von HCB als Saatgutbeizmittel und als Bodenfungizid (66). In der Schweiz ist HCB schon seit Jahren als Bodenbehandlungsmittel verboten (13).

In der Bundesrepublik sind die Höchstmengen an HCB in oder auf Lebensmitteln tierischer Herkunft gesetzlich festgelegt in der "Verordnung über Höchstmengen an DDT und anderen Pestiziden in oder auf Lebensmitteln tierischer Herkunft" vom 15. November 1973 (67).

Fleisch, Fleischerzeugnisse, Fische und andere wechselwarme Tiere, Krusten-, Schalen- Weichtiere sowie daraus hergestellte Erzeugnisse, tierische Speisefette, Milch, Milcherzeugnisse	0,5 mg/kg ¹⁾
Eier (ohne Schale), Eiprodukte	0,3 mg/kg ²⁾

1) die angegebenen Höchstmengen sind auf den Fettgehalt bezogen

2) bezogen auf das Gewicht der zur Herstellung verwendeten Eier ohne Schale.

In der "Verordnung über Pflanzenbehandlungsmitteln in oder auf Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft und Tabakerzeugnissen" vom 13.Juni 1978 wird für HCB folgendes festgelegt: (68)

Gemüse bis 31.Dezember 1980	0,1 mg/kg ¹⁾
Tee, teeähnliche Erzeugnisse	
andere pflanzliche Lebensmittel	0,01 mg/kg ¹⁾
Tabakerzeugnisse	0,3 mg/kg ²⁾

1) Wirkstoff je kg Frischgewicht des Lebensmittels. Bei Tee oder teeähnlichen Erzeugnissen bezieht sich die Höchstmenge auf 1 kg des trockenen, zur Abgabe an den Verbraucher bestimmten Erzeugnisses.

2) bezogen auf den Tabakgehalt.

Die HCB-Rückstände in Tierkörpern und tierischen Produkten entstammen auch von den mit HCB kontaminierten Futtermitteln, deshalb wurden für Mischfuttermittel und Einzelfuttermittel Höchstgehalte gesetzlich vorgeschrieben.

Nach der Futtermittelverordnung vom 16.Juni 1976(69) sind folgende Höchstmengen für HCB vorgeschrieben.

Getreide	0,01 mg/kg
tierische oder pflanzliche Fette	0,3 "
Tiermehle	0,04 "
andere Einzelfuttermittel	0,02 "
Alleinfuttermittel für Kälber	0,06 "
Alleinfuttermittel für Schweine	0,02 "
Alleinfuttermittel für Geflügel	0,025 "
andere Alleinfuttermittel für Nutztiere	0,03 "

Die ADI (acceptable daily intake) gibt die Dosis eines Fremdstoffes an, die von der Mehrzahl der Bevölkerung ohne Gesundheitsrisiko zu sich genommen werden kann. Von der FAO/WHO wird für den Menschen die ADI von HCB mit 0,6 µg/kg Körpergewicht und Tag angegeben.

5. Toxikologie

a) akute orale Toxizität.

Im Vergleich zu anderen Pestiziden hat HCB oral verabreicht eine niedrigere akute Toxizität, deren Ursache in einer geringeren Resorptionsrate einzelner HCB-Dosen durch den Gastro-Intestinaltrakt zu suchen sein dürfte.

Akute Toxizität von HCB nach einmaliger oraler Applikation (in mg/Körpergewicht) (70)

Spezies	Min.letale Dosis	durchschnittl. letale Dosis	absolute letale Dosis
Maus	2000	4000	7500
Ratte	2000	3500	6000
Hamster	1600		
Meerschwein.	3000		
Kaninchen		2600	
Katze		1700	

Bei Klimmer (5) wird die akute orale Toxizität (LD_{50}) für die Ratte mit 9,5 g/kg Körpergewicht angegeben.

b) chronische Toxizität

Im Vergleich zur akuten Toxizität ist die chronische bzw. die subchronische Toxizität von HCB sehr viel

gefährlicher. Es bestehen sowohl spezies- wie geschlechtsabhängige Toxizitätsunterschiede.

Gralla (71) verabreichte Beaglehunden über fünf bzw. 12 Monate lang täglich oral 1, 10, 100 und 1000 mg HCB pro Hund und Tag. Im Laufe seiner Untersuchungen starben von 12 Hunden sechs Tiere aus den beiden Gruppen mit der höchsten Dosierung.

30 männliche und 30 weibliche Mäuse bekamen 15 Wochen lang je 300 ppm HCB oral und mehr als die Hälfte aller männlicher Tiere starb innerhalb des Versuches. Ratten scheinen weniger empfindlicher gegenüber hohen HCB-Dosen zu sein, wie andere Tiere. So starben nach täglicher oraler Belastung mit 500 mg/kg nach 13 Versuchstagen acht von 11 männlichen Ratten und nach 15 Tagen starben fünf von 11 weiblichen Ratten, während alle männlichen und weiblichen Meerschweinchen, die täglich mit der gleich hohen Dosis HCB behandelt wurden, innerhalb 12 Tagen verendeten. Weibliche und männliche Ratten, die 70 Tage lang mit chronischen Dosen HCB behandelt wurden, zeigten bei den weiblichen Tieren eine höhere Mortalitätsrate, wie bei den männlichen Tieren; denn bei HCB-Dosen von 320 bzw. 640 ppm starben zwei von 20 männlichen, aber 10 von 20 weiblichen Tieren. Junge Ratten starben noch vor dem Entwöhnen, wenn die Muttertiere mit 320 bzw. 640 ppm HCB belastet wurden, wobei bei den Muttertieren der Verlust 20% bzw. 50% betrug.

Hamster wurden mit 99,5%ig reinem HCB einem Belastungsversuch unterzogen (50, 100 und 200 ppm). Nach 50 Wochen lebten noch 71% aller behandelten Tiere; doch nach 70 Wochen konnte eine deutlich kürzere Lebensspanne in der Gruppe mit 200 ppm aufgezeigt werden.

Hamster wurden mit 99,5%ig reinem HCB einem Belastungsversuch unterzogen (50, 100 und 200 ppm). Nach 50 Wochen lebten noch 71% aller behandelten Tiere; doch nach 70 Wochen konnte eine deutlich kürzere Lebensspanne in der Gruppe mit 200 ppm aufgezeigt werden.

Bei Kaninchen mit einer Belastung von 80 mg HCB/kg Körpergewicht und Tag, stieg nach neun Behandlungstagen die Mortalitätsrate signifikant an. Von den untersuchten Tieren scheinen die japanischen Wachteln weitaus am empfindlichsten zu sein; nach vierwöchiger oraler Belastung mit 500 ppm starben alle Tiere (71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81).

c) Klinisches Vergiftungsbild

Das klinische Vergiftungsbild beim Menschen konnte erstmals durch eine Massenvergiftung in der Türkei in den Jahren 1955 bis 1959 näher beschrieben werden. Neben einem gestörten Allgemeinbefinden, wurden porphyrinogene Hautveränderungen vor allem an lichtexponierten Stellen beobachtet (5, 9, 82, 83), wobei es zu Blasenbildung, Epidermolyse und Ulzerationen kommt. Daneben wurden erhebliche Hepatomegalien und Porphyrinurie mit Überwiegen von Uroporphyrin III und Koproporphyrin III bei den Patienten entdeckt.

Zu dieser Massenvergiftung kam es, weil mit HCB gemischter Saatweizen für die Herstellung von Brot verwendet wurde (73). Nachträglich fand man heraus, daß etwa 0,05 bis 0,2 g HCB pro Tag und Person aufgenommen wurde. Es erkrankten zwischen 3000 und 5000 Personen an den oben beschriebenen Symptomen, die weitgehend dem bekannten Krankheitsbild der Porphyria cutanea tarda (PCT) entsprachen.

Die Mortalitätsrate lag bei etwa 10% (82,83,85, 86,87). Auffallend war eine bevorzugte Erkrankung von männlichen Personen 76% aller Erkrankten (83), sowie von Kindern und Jugendlichen im Alter von vier bis 14 Jahren mit 80% (82,84).

Um das klinische Vergiftungsbild besser beschreiben zu können, unterzogen viele Forscher Beaglehunde, Ratten, Mäuse, Hamster, Meerschweinchen, Kaninchen und Affen Toxizitätsuntersuchungen.

In der Regel wurde eine mehr oder weniger starke Störung des Allgemeinbefindens beobachtet, die mit verminderter Futteraufnahme, Appetitlosigkeit, Wachstumsdepressionen einhergeht. Ebenso werden gastro-intestinale Störungen beschrieben. Hautveränderungen in Form von Rötung und Schwellung vor allem um Auge und an den Pfoten, stark verdünnte Haare, teilweise Haarausfall, blutig infiltrierte Hautblasen treten auf. Im Gegensatz zum Menschen (81,82) überwiegen bei den Versuchstieren neurologische Symptome mit abnorm gesteigerter Erregbarkeit, Tremor, Ataxie, Konvulsionen und schließlich Paralysen. Auch hier scheint die Empfindlichkeit der Meerschweinchen höher zu sein, da sie unter einem gleichbleibend starken Tremor mit teilweise klonischen Krämpfen leiden, wohingegen Mäuse und Ratten nur ein feines Zittern am ganzen Körper zeigen mit teilweise klonischen Krämpfen vor allem der Hintergliedmaße und Aufhebung der Schmerzempfindung in diesem Bereich (73,77,78,88,89 90,91,92).

Die Fruchtbarkeit einzelner Tierarten scheint sich unter HCB-Belastung zu ändern.

So konnten bei Affen Veränderungen an den Ovarien festgestellt werden, die den Veränderungen an den Ovarien in der Menopause ähneln. Bei Ratten ist der Fruchtbarkeitsindex deutlich verringert, die

durchschnittliche Wurfgröße sinkt und die Häufigkeit von Totgeburten nimmt zu (90,91).

Über Veränderungen im Blut in Form einer Neutrophilie, einer Zunahme der Aktivität der alkalischen Phosphatase und der GOT-Aktivität berichtet Gralla (71) bei Beaglehunden. Die dabei mit auftretende Hypoglykämie, Hypocalzämie und Anämie werden der schlechten Futteraufnahme zugeschrieben. Die Serumtriglyzeride zeigten ebenfalls einen Anstieg und zwar stärker am Anfang der Behandlung mit einem Rückgang auf Normalwerte bei weiterer Behandlungsdauer.

Bei Ratten, die 15 Tage lang 0,4 g HCB/100 g Körpergewicht bekamen, zeigten die Enzymaktivitäten im Serum keine wesentlichen Veränderungen, in der Leber wird von einer mäßigen Abnahme der LDH (Laktatdehydrogenase) und der MDH (Malatdehydrogenase) berichtet (93).

Eine zehn-monatige Belastung mit 160ppm führte aber zu einer 100%ig erhöhten Aktivität der GPT (Glutamat-pyruvat-Transaminase) und einer 50%ig verminderten Aktivität der CPK (Creatinkinase) bei Ratten (94). Ein deutliches Maximum konnte für die SDH (Sorbitdehydrogenase) bei Ratten festgestellt werden und zwar nach der sechsten Belastungswoche mit 8 bzw. 32 mg HCB/kg Körpergewicht und Tag (95).

Bei Ratten, die drei Wochen mit 500, 1000 und 2000 mg HCB behandelt wurden, entwickelte sich in der Gruppe der höchsten Dosis eine Neutrophilie, Basophilie, Zunahme der Monozyten, eine mäßige Lymphozytose, eine Zunahme der Leukozyten.

Bei den Immunglobulinen war JgM deutlich erhöht und zwar 2,6 mal höher bei der Gruppe mit 2000 mg im Vergleich zur Kontrollgruppe (96). Das Immunsystem wird von HCB in der Weise beeinflusst, daß es die humoral vermittelte Immunabwehr bei Ratten stimuliert, aber die zell vermittelte Abwehr nicht ändert (96,97).

Widersprüchlich sind dagegen Versuche mit Mäusen, wonach HCB humoral vermittelte Abwehr unterdrückt; es kommt zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber einer Infektion mit Plasmodium berghei und gegenüber einer Endotoxinwirkung bei Mäusen (98, 99).

d) Pathologisch-anatomisches Vergiftungsbild.

Bei allen untersuchten Tieren stehen dystrophische Leberveränderungen mit deutlicher Gewichtszunahme des relativen Organgewichtes im Vordergrund. Bei Beaglehunden sind die weitaus auffälligsten Veränderungen im Abdomen festgestellt worden in Form einer Serositis, vor allem des großen Netzes, wobei es zu Verklebungen mit Nachbarorganen kommt und schließlich zu einer Fibrosierung und Gefäßeinsprossung. Es kommt zur fettigen Degeneration der Leber mit Interstitieller Fibrose und einer Gallengangshyperplasie. Auffallend waren ebenso knötchenförmige Hyperplasien des gastrischen Lymphgewebes. Bei 33% der Hunde, die mit 1000 mg HCB pro Tag behandelt wurden, trat eine Arteritis bzw. Periarteritis im Bereich der kleinen Arterien und Arteriolen auf.

Bei Ratten und Mäusen trat eine Zunahme des Gewichts der Leber, von Milz, Kniekehl- und Mesenteriallymphknoten auf. An Lungen, Herz, Schilddrüse, Nebennieren, dem Urogenitalsystem und an der Haut wurden pathologisch-anatomische Veränderungen gefunden. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten eine Vermehrung des glatten endoplasmatischen Retikulums und breite graue Windungen in den zentrolobulär gelegenen Leberzellen. Ebenso findet man eine Vergrößerung der Hepatozyten mit sehr kleinen und verstreut liegenden Mitochondrien, die sehr oft in enger Verbindung zum rauen endoplasmatischen Retikulum stehen.

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Leber von Ratten, zeigen eine Fluoreszenz vor allem im zentrolobulären Bereich, die eine bevorzugte Lokalisation in den Leberzellkernen und den Kupffer'schen Sternzellen zeigt.

Bei Beaglehunden konnte keine Fluoreszenz in der Leber, im Gallengangssystem, im Duodenum, an den Zähnen und Knochen beobachtet werden. Eine Leberfluoreszenz gilt als Hinweis für das Vorliegen einer PCT (71,76,77,78,88,90,101,102).

Unter HCB-Behandlung wurde bei Mäusen und Hamstern eine erhöhte Tumorbereitschaft entdeckt. Neben Schilddrüsenadenomen, Hepatomen ohne Metastasierungstendenz und Hämangiomendotheliome traten auch vermehrt Neoplasien der Nebennieren auf.

Die Kanzerogenität von polychlorierten Terphenylen wird bei gleichzeitiger Belastung mit HCB verstärkt. Ebenso erhöhte HCB die Mutagenität von 2,4-Diaminoanisol (74,79,103,104,105).

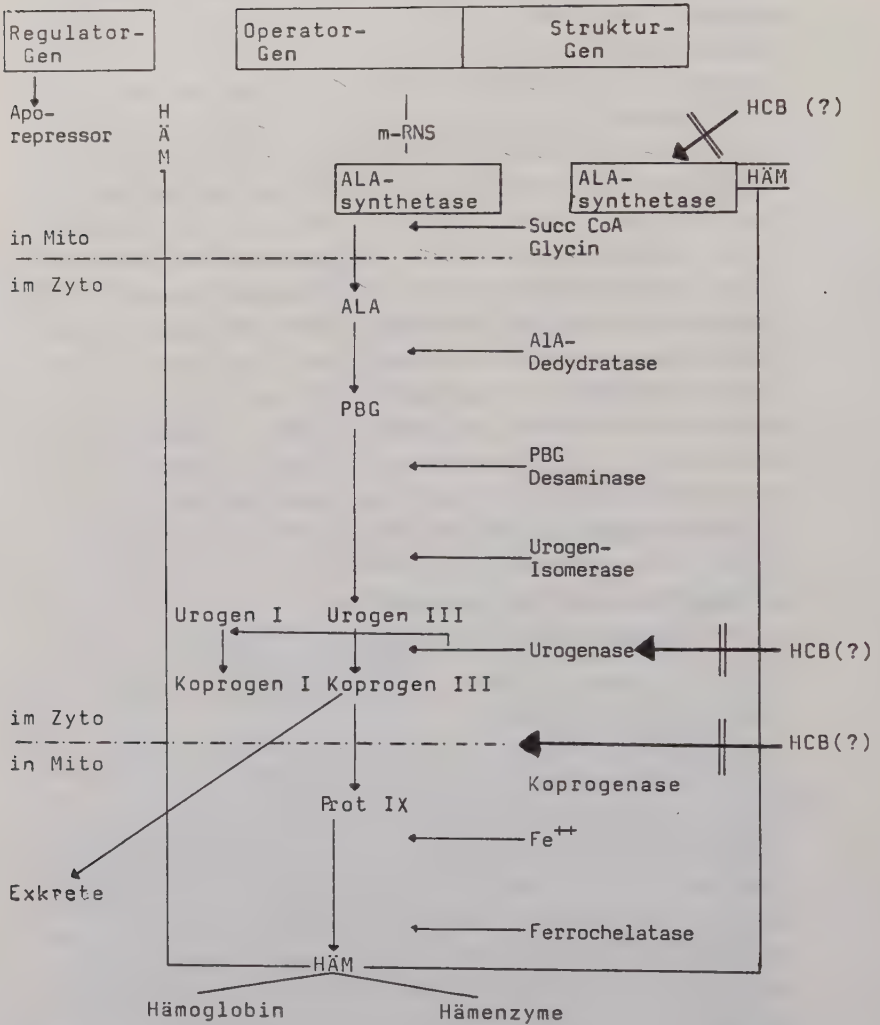
e) Biochemisches Vergiftungsbild

Die biochemischen Veränderungen bei einer HCB-Belastung sind in erster Linie Störungen in der Porphyrinbiosynthese.

Eine zusammenfassende Darstellung der Porphyrinbiosynthese ist nachfolgend aufgestellt.

Normal besteht ein sehr fein ausgewogenes Gleichgewicht zwischen Bereitstellung und Verbrauch der Hämproteine ohne Anhäufung von Zwischenprodukten. Bei der PCT fällt der Regelmechanismus in der Porphyrinbiosynthese aus und es kommt zu einem Anstieg der Porphyrine. Eine Schlüsselstelle nimmt die δ -ALA-synthetase ein (δ -Aminolävulinsäure-synthetase), welche zusätzlich in einem Art

Abb.1: Biosynthese von Hämproteinen (73,110,modif.)



Rückkopplungsmechanismus vom jeweiligen quantitativen Anfall des Häm entweder angeregt oder gehemmt wird. Bei der durch HCB verursachten Porphyrrie, wird die δ -ALA-synthetase zwar angeregt, doch das anfallende Häm vermag das Enzym nicht mehr zu unterdrücken.

Nun kommt es zu einem Anstieg der Präkursoren, (Uroporphyrinogen III und Koproporphyrin III), die hauptsächlich über die Nieren, aber auch teilweise in den Fäces ausgeschieden werden. Zugleich kommt es zu einem Anstieg von Porphyrinen in der Leber, der Haut, dem Intestinaltrakt und anderen Organen. Dabei überwiegen die Porphyrine mit jeweils 6, 7, oder 8 Carboxylgruppen (COOH), weil es unter einer HCB-Behandlung zu einer drastischen Aktivitätsverminderung der Uroporphyrinogendecarboxylase (Urogenase) kommt (88,89,106,107,108,109,110). Das Überwiegen von freiem Eisen in der Leber, Lebersiderosis, soll die HCB induzierte Porphyrrie noch verstärken, indem die Aktivität der Urogenase durch Eisen gehemmt wird (88,89,111).

Neben der Induktion der δ -ALA-synthetase und einer Verminderung der Aktivität der Urogenase, verändert HCB die Aktivität der δ -Aminolävulinsäuredehydrogenase (108), der Anilinhydroxylase (94), der Aminopyrin-N-Demethylase (112,113,114), der Leberesterasen (104,115), der O-Dealkylase (116), der Glukuronyltransferase (6), der p-Nitroanisol-Demethylase (6,104), der Biphenyl-2-Hydroxylase (104), der Biphenyl-4-Hydroxylase (104), der Glucose-6-Phosphatase (117), der Benzpyren-Hydroxylase (117), der Azoreduktase (117), der Hexobarbitaloxidase (112), der NAD-Cytochrom-c-Reduktase (113) und von Cytochrom P 450 (6,104,108,113,114,117,118).

Außerdem wird der Leberstoffwechsel von Steroidhormonen

durch HCB verändert. Bei Ratten entstehen dadurch mehr 5 β -Steroide (119), deren porphyrinogene Wirkung bekannt ist. Männliche Ratten oder ovariectomierte weibliche Ratten entwickeln die HCB-Porphyrurie bei gleicher Belastung wesentlich später. Dieser Unterschied kann durch Östrogenzufuhr aufgehoben werden (120,121). Das Ausbleiben der Porphyrurie auch bei weiblichen Beaglehunden trotz hoher HCB-Belastung wurde auf den niedrigen Hormonspiegel zurückgeführt. Die Hündin hat einen polyöstrischen, von Umwelteinflüssen weitgehend unabhängigen Zyklus mit einer Dauer von 200 ± 45 Tagen. Die klinischen Symptome des zyklischen Geschehens sind zeitlich auf 70 bis 90 Tage beschränkt, sodaß auf dieser Basis der Zyklus der Hündin als monöstrisch eingestuft wird, im Gegensatz zum Polyöstrus bei Ratte und Mensch. Im Vergleich zu anderen Tierarten sind die Östrogenkonzentrationen bei der Hündin sehr niedrig (122). Neilson et al (123,124) postuliert als Wirkungsmechanismus porphyrinogener Substanzen eine Einlagerung in biologische Membranen, verbunden mit einer Erhöhung der Fluidität. Dadurch soll der Transport von Koproporphyrinogen III in die Mitochondrien behindert werden. Dies würde zu einer verminderten mitochondrialen Häm-Synthese, durch Rückkopplung zum Anstieg und zur Akkumulation der δ -ALA-synthetase führen. Der Zusammenhang zwischen porphyrinogener Wirkung und Fluidisierung von Membranen wurde an einer Reihe von isomeren Steroiden, Benzol- und Adamantanderivaten gesichert. Neben den Steroiden könnten also auch HCB selbst oder einer seiner Metaboliten durch Einlagerung in die Membran die Porphyrurie entstehen lassen.

6. Stoffwechselverhalten von Hexachlorbenzol.

a) Resorption

HCB hat einen stark apolaren, lipophilen Charakter; aufgrund dieser Lipophilie wird es bei gleichzeitiger Anwesenheit von Fetten und Lipoiden im Magen-Darmkanal bevorzugt resorbiert. In wässriger Suspension wird HCB bei Kaninchen und Ratten nur zu 4 bis 6% resorbiert, dagegen steigt nach oraler Gabe von ^{14}C -HCB in öligem Lösung der Resorptionsumfang auf durchschnittliche 80% der verabreichten Radioaktivität. In Gegenwart von Öl war der Resorptionsumfang dosisunabhängig. Bei steigenden Dosen soll aber eine relative Resorptionsverschlechterung stattfinden. HCB wird im Bereich des Duodenums und Jejunum-Ileums über das Lymphgefäßsystem resorbiert und dann im Fettgewebe abgelagert (125,126,127,128,129).

b) Biotransformation von Hexachlorbenzol

Parke und Williams (125) stellten 1959 erstmals Untersuchungen über die Biotransformation des HCB bei Kaninchen an. Da sie keine Stoffwechselprodukte fanden, hielt man HCB metabolisch für inert. Erst als HCB dann als Umweltchemikalie eine Rolle spielte und es zu schweren Störfällen durch HCB kam, wurden die Untersuchungen erneut aufgenommen. Als wichtigste Metaboliten wurden Pentachlorphenol (6,131) und Pentachlorthiophenol (130) gefunden. Das nachfolgende Schema der Biotransformation von HCB zeigt den derzeit neuesten Stand in der Vielzahl weiterer Metaboliten (6,130,131,132,133,134,135).



Dechlorinierung
Oxygenierung
H₂O₂

Dechlorierung



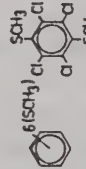
Pentachlorbenzol

1,2,3,4-Tetrachlor-
benzol

1,2,4,5-Tetrachlorbenzol



Tetrakis(methylthio)-
dichlorbenzol



AMICA



-MICIP



14-D-71



ИЗДАНИЕ



Total time taken



1,3,5-Trichlorbenzol



26



2.



-7-

PCC: N-Acetyl-S-(pentachlorophenyl) cystein
HMTB: Hexakis(methylthio)benzol
BMTCB: Bis(methylthio)tetrachlorbenzol
4-MTCTP: 4-Methylthio tetrachlorphenol (I)
4-DWCTP: 4-Dimercapto-4-tetrachlorbenzol
TCH: Tetrachlorhydrachlinon

c) Verteilung und Akkumulation

HCB wird in allen Körpergeweben gefunden, wobei das Fettgewebe im Vordergrund steht. Normalerweise enthält das Fettgewebe im Körper mehr als 90% des gesamten HCB. Nach Belastungsversuchen mit HCB wurde bei der Ratte folgende Organverteilung gefunden: Fett Leber Niere Lunge Gehirn Milz Herz Muskulatur Plasma (162),

Gralla (71) fand bei Beaglehunden eine zeit- und dosisabhängige Konzentrationszunahme von HCB im Fettgewebe und der Galle.

Die Leberkonzentration von HCB bei Ratten ist dosisabhängig und etwa 10 mal höher als die Serumkonzentration. Nach einmaliger HCB-Aufnahme kann innerhalb der ersten sechs bis 12 Stunden in den meisten Organen ein HCB-Maximum festgestellt werden.

Im Fettgewebe steigt die Konzentration dagegen nur langsam an, sodaß es in den folgenden Tagen durch Umverteilung in das Fett zu einer raschen Abnahme in den meisten Organen kommt.

Auch bei Affen fand man die höchsten HCB-Konzentrationen im Fettgewebe und im Knochenmark. Überraschend hohe Rückstände wurden in den Nebennieren und im Thymus gemessen. Im Fettgewebe wurde nach 1 1/2 jähriger Fütterung mit 1 ppm HCB bei den Affen noch kein Plateau erreicht.

Bei Schweinen, Schafen und Hühnern ergibt sich das gleiche Verteilungsmuster mit den höchsten HCB-Rückständen im Fettgewebe (30,71,94,136,137,138,139,140,141,142,143).

Über eine Verteilung im Foetus als Folge des Über-tretens durch die Plazentarschranke wird berichtet. Die größere Gefahr für die Jungtiere scheint jedoch in der Aufnahme von hohen HCB-Mengen über die

Muttermilch zu liegen(146,147).

d) Ausscheidung

Die Ausscheidung von HCB geschieht dosisabhängig über Faeces, Urin, Milch und Eier.

Eine Ausscheidung über die Lunge soll unbedeutend sein (125,126,147).

Die Verteilung der Ausscheidung an weiblichen Ratten nach einer Einzeldosis von 5 mg/kg i.p. ergibt, daß in vier Wochen 7% der Radioaktivität von ^{14}C -HCB über die Nieren und 27% der Radioaktivität über die Faeces ausgeschieden wird. Dabei fand man im Urin fast nur Metaboliten, während in den Faeces 69% als unverändertes HCB vorlagen (147).

Bei Fütterung von 1,5 ppm ^{14}C -HCB über eine Woche an männliche Ratten wurden dagegen nach fünf Wochen nur 2,1% im Urin und 27,8% in den Faeces wiedergefunden (136).

Rozman et al (132) fanden nach oraler Einzeldosis von ^{14}C -HCB bei Ratten und bei Rhesusaffen eine ähnliche Ausscheidungsverteilung.

Ratten	männlich	weiblich
Gesamtausscheidung (%der r.a. nach 40 Tagen)	36,1	30,3
Urin	1,1	2,3
Kot	35,0	28,0
Rhesusaffen	männlich	weiblich
Gesamtausscheidung (%der r.a.nach 40 Tagen)	29,9	12,4
Urin	1,9	2,6
Kot	28,0	9,8

Demnach scheinen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern doch signifikante Unterschiede zwischen den Spezies vorzuliegen.

Die gemessene Halbwertszeit (HWZ) liegt bei der Ratte zwischen drei und vier Monaten, während bei Affen dagegen eine HWZ von 2,5 bis 3 Jahren geschätzt wurden. Nach einer Einzeldosis HCB i.v. schieden Affen im ersten Jahr 28% der Dosis in den Faeces und 1,6% im Urin aus. Für die Abnahme der HCB-Konzentration im Plasma wurde ein drittes Kompartiment mit einer HWZ von mehreren 100 Jahren postuliert (146). Richter (136) fand bei Untersuchungen an

Ratten eine Ausscheidung in zwei Pasen, wobei die erste Phase mit einer HWZ von 9,79 Tagen, die zweite Phase mit 154,7 Tagen geschieht; dies entspricht weitgehend den Untersuchungen von Rozman. Im Fettgewebe von Schweinen und Schafen wurden HWZ von 10 bis 12 bzw. 10 bis 18 Wochen gefunden.

Bei Hennen wird ein wesentlicher Teil über die Eier ausgeschieden und zwar 35% über die Eier und 10% über die Faeces in Prozent der täglichen Futteraufnahme. Dabei wurden im Weißei 1000mal niedrigere Werte als im Dotter gefunden. Die HWZ bei der Ausscheidung beträgt über den Eidotter 38,5 Tage.

Versuche an Beaglehunden erbrachten das Ergebnis, daß die faecale Ausscheidung ein Resultat der Galleexkretion sein soll und der Hauptausscheidungsweg ist,, während über den Urin ein wesentlich kleinerer Betrag ausgeschieden wird (136,138,140,143,148,149,150).

e) Therapiemöglichkeiten

Bislang hatte man für die Behandlung der PCT durch HCB nur symptomatische Maßnahmen in der Hand. Dabei bewährte sich der von Ippen (151) empfohlene Aderlaß

der zu einer massiven Reduktion des Körpereisens führt am besten. Alternativ dazu kann mit Chelatbildnern wie Desferrioxamin oder EDTA (152) die vermehrte Eisenausscheidung bewerkstelligt werden. Gut bewährt hat sich auch die Therapie mit Chloroquin (153). Alle diese Maßnahmen führen nur zur Reduktion des Porphyringehaltes, während das auslösende Gift über Jahre im Körper verbleibt und immer wieder neue Krankheitsschübe auszulösen vermag. Eine Beschleunigung der Ausscheidung von HCB ist deshalb von großer Bedeutung.

Versuche mit bereits bekannten Behandlungsmethoden für lipophile Fremdstoffe waren jedoch erfolglos. Bei Rindern in Louisiana, die einer starken HCB-Belastung ausgesetzt waren, wurde mit Futterrestriktion oder mit Futterzusätzen wie Phenobarbital, mit Jod angereichertes Casein und Thiouracil, Mittel, die den Stoffwechsel anregen sollen, versucht die HCB Ausscheidung zu beschleunigen. Diese Versuche blieben ohne Wirkung.

Auch bei Ratten konnte durch Futterrestriktion die HCB-Ausscheidung nicht beeinflußt werden. Auch durch eine Phenobarbitalbehandlung wurde die HCB-Ausscheidung bei Ratten nicht wesentlich beschleunigt. Dagegen wurde die Toxizität, gemessen an der Induktion von Leberenzymen und der Porphyrie durch diese Maßnahmen erheblich verstärkt.

Neue Untersuchungen zeigen, daß die Applikation der PAP (p-Aminobenzoesäure), die antagonistisch mit der δ -ALA-synthetase wirken soll, ebenfalls keine befriedigende Wirkung bei Behandlung der HCB induzierten Porphyrie bringt (154,155,156,157). Richter (136) versuchte dann mittels oraler Gabe von Paraffin die Ausscheidung von HCB zu be-

schleunigen.

Versuche an Ratten brachten dann auch überzeugende Ergebnisse; Tiere, die mit Paraffin behandelt wurden, schieden 76,4% HCB in den Faeces und 1,1% über den Urin aus, wohingegen die unbehandelten Tiere nach 35 Tagen im Faeces 27,8% und 2,1% über den Urin ausschieden.

Auch bei anderen lipophilen Fremdstoffen wie PCB (β -HCH, Mirex und Kepon und bei anderen Tierarten wie Affen und Schafen konnte der ausscheidungs-fördernde Effekt von Paraffin bestätigt werden (158,159).

C) Eigene UNTERSUCHUNGEN

1. Aufgabenstellung

Die Pharmakokinetik von Hexachlorbenzol sollte an Hunden untersucht werden.

Dabei sollte zur Klärung kommen, inwieweit der von Richter et al (136,159) für HCB und ein Pentachlorbiphenyl beschriebene ausscheidungsfördernde Effekt von dünnflüssigem Paraffin nach einer HCB-Belastung auch bei Hunden zutrifft.

Zum besseren Verständnis der Wirkungsweise des Paraffins sollte untersucht werden, in welchem Maß Hexachlorbenzol einem enterohepatischen Kreislauf unterliegt. Für diesen Zweck wurden permanente Gallengangskatheter beim Hund entwickelt, die es erlauben Gallenproben über einen Zeitraum von mehreren Monaten zu gewinnen ohne die physiologische Gallesekretion wesentlich zu stören.

Außerdem sollte die anteilmäßige Verteilung von HCB und seiner Metaboliten in den Faeces und in der Galle geklärt werden.

2. Materialien

α) Reagentien

- a - ^{14}C (U)-HCB (spezifische Aktivität 0.47 mCi/mMol)
GSF - Institut für Ökologische Chemie München
- b - dünnflüssiges Paraffin DAB 7
Merck, Darmstadt
- c - Aceton (CH_3COCH_3) p.a.
Merck, Darmstadt
- d - n-Hexan (C_6H_{14}) p.a.
Merck, Darmstadt
- e - 2 N Natronlauge
Merck, Darmstadt
- f - Salzsäure rauchend min. 37 % p.a.
Merck, Darmstadt
- g - Schwefelsäure 95-97 % p.a.
Merck, Darmstadt
- h - Natriumsulfat wasserfrei reinst (Na_2SO_4)
Merck, Darmstadt
- i - Kieselgel 60 reinst (+ 30% aqua dest.)
Korngröße 0,063 - 0,200 mm (70 - 230 mesh ASTM)
Merck, Darmstadt
- k - Aluminiumoxid (Al_2O_3)
Merck, Darmstadt
- l - Dioxan Szintillator
Packard
- m - Permafluor V
Packard
- n - Carbosorb
Packard
- o - Combustion cones und pads
Packard
- p - Carbon-14 Standard 5000 dpm für Sample Oxidizer
Amersham Buchler

ß) Geräte

- a - Gaschromatograph Hewlett Packard 5750 mit Nickel-63 Elektroneneinfangdetektor, Glassäule mit 4 m Länge, 2 mm Innendurchmesser, gepackt mit 3 % QF-1 auf 100 - 120 Mesh Gaschrom Q Säulentemperatur 185 °C, Einspritzblock 230 °C, Detektortemperatur 300 °C; als Trägergas (25 ml/min) und Spülgas (60 ml/min) wurde 10 % Methan in Argon verwendet.
- b - Integrator M 3 Perkin-Elmer
- c - Sample Oxidizer Packard Tri-carb B 306
- d - Flüssig-Szintillationszähler Packard Tri-carb 2660
- e - Rotavapor, Büchi Schweiz
- f - sterile Katheter aus Polyurethan 500 mm lang Ch 8 und Ch 10; ein Ende mit Muffe und versetzten Löchern
Versuchsmuster der Fa. Rüschi, Rommelshausen
- g - Einzelkäfige für Hunde aus Edelstahl
W.Ehret GmbH
- h - Ultra Turrax^R, Mod. T 45
Janke & Kunkel, Staufen
- i - EPPENDORF - Zentrifuge
- j - Multifit-Überwurfmuttern Nr. 93022 D
Reichert Chemie Technik
- k - Dichtungsringe für Multifit Kupplungen Nr. 93021 D
Reichert Chemie Technik
- l - Chromatographie-Säulen 0,70 m lang, 1,5 cm Außen-
durchmesser

3. Versuchstierhaltung

Beide Hunde wurden jeweils in einem Stoffwechselkäfig gehalten. In dem klimatisierten Versuchsstall schwankten die Temperaturen zwischen 20 °C und 24 °C bei einer durchschnittlichen relativen Luftfeuchte von 70 %. Das Beleuchtungsprogramm war auf zwölf Stunden Licht (07.00 Uhr bis 19.00 Uhr) und zwölf Stunden Dunkelheit automatisch geregelt. Die Fütterung der Hunde erfolgte regelmäßig an jedem Morgen (10.00 Uhr). Altromin 4011 Hundefutter wurde in der ersten Zeit (etwa bis zum 35. Versuchstag) von beiden Hunden bereitwillig aufgenommen. Dann wurde abwechslungsreicher gefüttert, wobei gekochtes Hackfleisch, Haferflocken, Hundeflocken und eine hochverdauliche Diät (Altromin C 0200), Knochen und etwas Frischfleisch gegeben wurde (160). Für die Behandlung mit Paraffin konnte dies sehr gut in die Hundeflocken eingemischt werden und wurde auch von den Hunden bereitwillig aufgenommen. Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

4. Operation (Einsetzung eines Gallengangkatheters)

Sinn dieser Operation war es, Beaglehunden einen permanenten Katheter in den Gallengang (Ductus choledochus) zu legen, um ohne Behinderung der normalen Gallesekretion den Hunden beliebig oft Galleflüssigkeit mit einer Spritze abziehen zu können.

Zur Übersicht über das Operationsfeld und dessen anatomische Verhältnisse siehe Abbildungen 3 und 4. Zur Operationsvorbereitung wurden die Tiere einen Tag vor der Operation nicht gefüttert. Die Schmerzausschaltung wurde über eine Neuroleptanalgesie

erreicht mit Combelen, Polamivet und Ketanest und zwar bei diesen Hunden in folgender Dosierung: Polamivet 0,5 ml/kg Körpergewicht i.m., Combelen 0,03 ml/kg Körpergewicht s.c., Ketanest 0,05 ml/kg Körpergewicht i.m..

Bis zum endgültig richtigen Sitz und zur richtigen Lage des Katheters wurden drei Hunde operiert, die alle vorzeitig wegen Schwierigkeiten post operationem (Katheter wurde von den Hunden herausgerissen, Abflußstörungen im Katheter, gestörtes Allgemeinbefinden in erheblichem Umfange mit sich langsam anbildendem Ikterus) aus dem Versuch genommen werden mussten.

Die Schwierigkeiten lagen darin, die richtige Lage des Katheters zwischen den Schulterblättern zu ermitteln und der Wahl eines geeigneten Katheters mit einem guten Verbindungsstück.

Ein von der Hauswerkstatt gefertigtes T-Stück aus Teflon mit zwei Multifit-Verschraubungen und einem Adapter für Luer-Lok (B.Braun Melsungen) erwies sich als sehr vorteilhaft. Abbildung 5

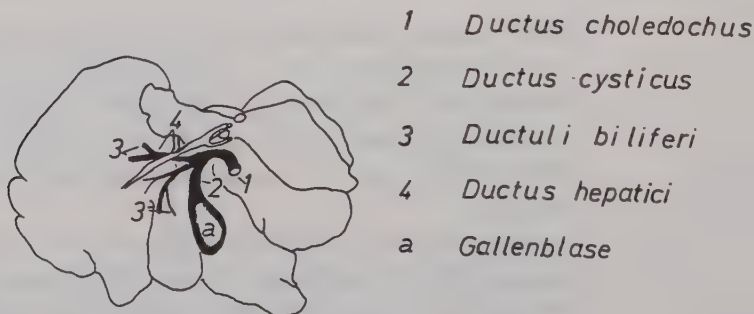


Abb. 3

Der Adapter wurde mit sterilen Einmalstopfen verschlossen. Zur Probenentnahme bzw. zum Spülen des abführenden Schenkels wurde eine sterile Einmalspritze verwendet. Zum Schutz vor Beschädigung des Verbindungsstückes durch den Hund, wurde eine Lage ermittelt, an die das Tier nicht mit den Zähnen und nur sehr schlecht mit den Hintergliedmaßen herankam.

Die Operation wurde bei den zwei Hunden, die schließlich für den HCB-Versuch verwendet wurden folgendermaßen durchgeführt:

Der Hund wurde narkotisiert und dann im Bereich der Linea alba, zur rechten Flanke hoch und zwischen den Schulterblättern im Bereich der Halswirbelsäule rasiert und desinfiziert. Die Operation wurde unter möglichst aseptischen Kautelen durchgeführt. Die Bauchhöhle wurde etwa 5 cm hinter und parallel zum rechten Rippenbogen durch einen etwa 10 bis 15 cm langen Schnitt eröffnet. Nach Aufsuchen der Leber und der daran liegenden Gallenblase, wurde der Ductus choledochus auf etwa 5 cm dargestellt und auf einer Länge von 4 cm zur Gallenblase und zum Duodenum (Papilla duodeni major) hin abgeklemmt und durchtrennt. Der Ductus choledochus war bei allen Hunden Strohhalmdick. Polyurethankatheter wurden mit dem mit Muffe und Lochreihen versehene Ende in den leicht gespreizten Ductus choledochus etwa 1,5 cm eingeführt und mit einem nicht resorbierbaren Faden (Ethibond^R 2-0, Fa. Ethicon) doppelt fixiert. Beide Katheter wurden etwa 5 cm voneinander getrennt innen an der Bauchwand mit Ethibond 2-0 angeheftet und unter der Haut zu vorgezeichneten Stelle

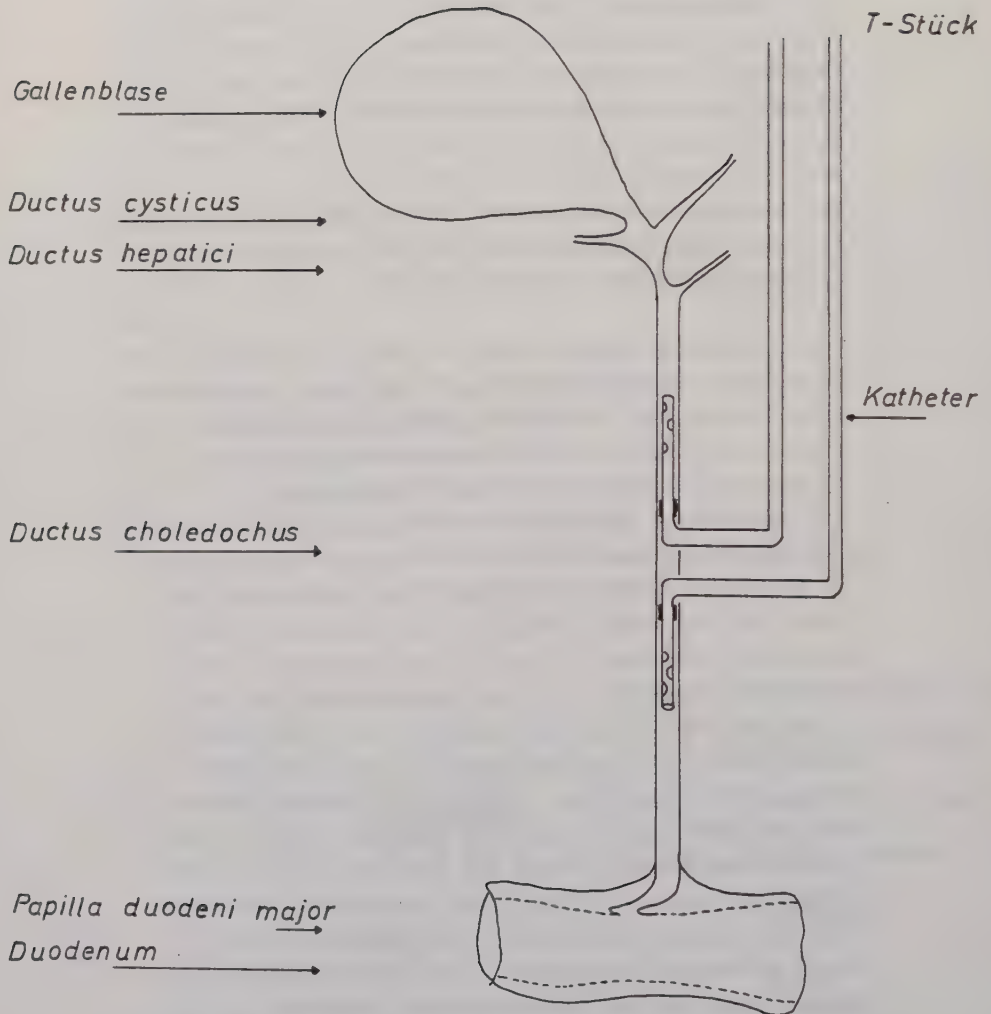
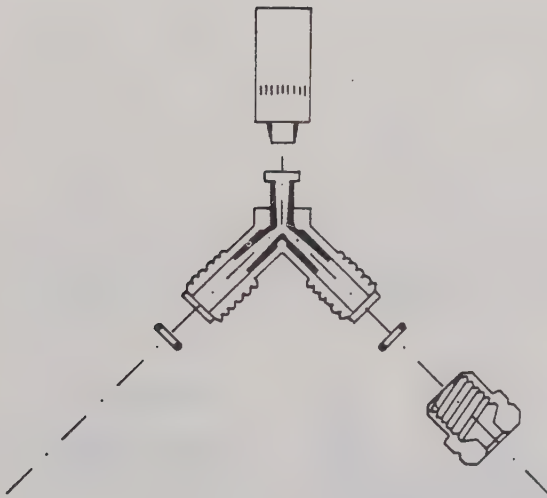


Abb. 4



Luer - Lok

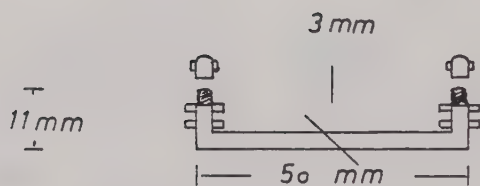
Körper, Teflon

O - Ring

Überwurfmutter

Abb. 5

V 2 A Bügel



Hutmutter

Bei lagscheibe

Abb. 6

knapp hinter den Schulterblättern in Höhe der HWS im Abstand von 1,5 bis 2,0 cm zueinander herausgeführt. Die Bauchhöhle wurde durch Peritoneum-, Muskel- und Hautnaht verschlossen.

Jeweils 2,0 cm seitlich von den Katheterenden wurde ein U-Bügel mit Gewinde aus V₂A Stahl (Abb.6) in Längsrichtung des Halses eingebaut. Die beiden Katheter wurden über ein T-Stück miteinander verbunden und jeweils der abführende und zuführende Schenkel mit Hymecromon^R gespült. Auf die vier Gewindeteile der beiden U-Bügel wurde ein Leder-täschchen (8,0 x 5,0 cm) gesteckt, welches oben mit einem Reißverschluß versehen war und mit vier Überwurfmuttern an die Bügel befestigt wurde. Das T-Stück fand darin Platz und war so vor Beschädigung geschützt.

5. HCB-Versuch

a) Herstellung der Kapseln mit HCB

Von einer ¹⁴C-HCB Lösung in Benzol mit $10,3 \times 10^{-3}$ g/ml wurden für Hund 1 (10,5 kg Körpergewicht) und für Hund 2 (13,6 kg Körpergewicht) jeweils 505 μ l bzw. 650 μ l mit einer Eppendorf-Varipette 4710 (100-1000 μ l) in Gelatinekapseln (Parke-Davis Nr.00) mit etwas Glucose (ca. 100 mg) einpipettiert und das Benzol anschließend im Abzug abgedampft.

b) Versuchsplan - Versuchsdurchführung

Der Versuchsplan war, beide Hunde über 30 Tage mit 0,5 mg HCB/kg Körpergewicht und Tag zu belasten (Hund 1 5,2 mg HCB/Tag, Hund 2 6,7 mg HCB/Tag)

und anschließend die HCB-Ausscheidung in Faeces, Urin, Galle, Vollblut und Plasma zu messen und einige Tage eine Paraffinbehandlung durchzuführen, mit der Absicht die HCB-Ausscheidung zu beschleunigen.

Der zeitliche Versuchsablauf geht aus folgendem Schema hervor:

HCB-Versuchsablauf (zeitlich)

	Invasion	Evasion	Behandlung
Hund 1	30 Tage 5,2 mg HCB/Tag	114 Tage	keine
Hund 2	30 Tage 6,7 mg HCB/Tag	184 Tage	60. bis 65.Tag ^{a)} 73. bis 79.Tag ^{b)} 94. bis 98.Tag ^{c)}

- a) 100 ml Paraffin/Tag p.o.
b) 50 ml Paraffin/Tag p.o.
c) 50 ml Squalan/Tag p.o.

Während der Invasion bekamen die Hunde täglich vor der Fütterung eine Kapsel mit HCB verabreicht. Um die HCB-Verteilung bzw. dessen Einbau in den ersten Tagen genau verfolgen zu können, wurden Proben von Faeces, Urin, Galle, Vollblut und Plasma nach folgendem Schema genommen und auf ihre Radioaktivität hin bestimmt (Tabellen 1 und 2).

Tabelle 1:

Hund 1 Probennahme während der Invasion (zeitlich)

Tage	Faeces	Urin	Vollblut	Plasma	Galle
1	-	-	a,b,c,d,e	a,b,c,d,e	a,b,c,d,e
2	a	a	a,b,c,d,e	a,b,c,d,e	a,b,c,d,e
3	a	a	a	a	a
4	a	a	a	a	a
5	a	a	a	a	a
6	a	a	a	a	a
7	a	a	a	a	a
8	a	a	a	a	a
9	a	a	a	a	a
10	a	a	a	a	a
11	a	a	a	a	a
12	a	a	a	a	a
13	a	a	a	a	a
14	a	a	a	a	a
15	a	a	a	a	a
16	a	a	a	a	a
17	a	a	-	-	a
18	a	a	a	-	a
19	a	a	-	-	a
20	a	a	a	-	a
21	a	a	-	-	a
22	a	a	a	-	a
23	a	a	-	-	a
24	a	a	a	-	a
25	f	a	-	-	a
26	a	a	a	-	a
27	a	a	-	-	a
28	■	a	a	-	a
29	a	a	-	-	a
30	a	a	a	a	a

- : keine Probe gesammelt,
a : 10.00 Uhr Probe,
b : 11.00 Uhr Probe,
c : 12.00 Uhr Probe,
d : 14.00 Uhr Probe,
e : 18.00 Uhr Probe,
f : keine Faeces ausgeschieden.

Tabelle 2:

Hund 2 Probennahme während der Invasion (zeitlich)

Tage	Faeces	Urin	Vollblut	Plasma	Galle
1	-	-	c,d,e	c,d,e	c,d,e
2	a	a	a,b,c,d	a,b,c,d	a,b,c,d
3	a	a	a, d	a. d	a, d
4	a	a	a	a	a
5	a	a	a	a	a
6	a	a	a	a	a
7	a	a	a	a	a
8	a	a	a	a	a
9	a	a	a	a	a
10	a	a	a	a	a
11	a	a	a	-	a
12	a	a	a	-	a
13	a	a	a	-	a
14	a	a	a	-	a
15	a	a	a	-	a
16	a	a	a	-	a
17	a	a	-	-	a
18	a	a	a	-	a
19	a	a	-	-	a
20	a	a	a	-	a
21	a	a	-	-	a
22	a	a	a	-	a
23	a	a	-	-	a
24	a	a	a	-	a
25	a	a	-	a	a
26	a	a	a	-	a
27	a	a	-	-	a
28	a	a	a	-	a
29	a	a	-	-	a
30	a	a	-	-	a

- : keine Probe gesammelt,
a : 09.30 Uhr Probe,
b : 11.30 Uhr Probe,
c : 13.30 Uhr Probe,
d : 17.30 Uhr Probe,
e : 21.30 Uhr Probe.

Bei Hund 1 wurde während der Evasion bis zum 114. Versuchstag Faeces jeden Tag, Urin jeden Tag, Galle jeden Tag, Vollblut und Plasma in unregelmäßigen Abständen von vier bis sieben Tagen genommen und die Radioaktivität gemessen.

An den Versuchstagen 5,8,12,16,18,20,24,28,32,33,34, 36,41,46,50,53,76,110 wurde der HCB-Gehalt der Galle gaschromatographisch bestimmt und an den Versuchstagen 33,35,42,45,47,50,51,52,59 wurde der HCB-Gehalt von Faeces gaschromatographisch bestimmt. An den Versuchstagen 5,8,12,16,20,24,28,32 wurde die Galle gaschromatographisch auf den HCB-Gehalt und möglicher Metaboliten untersucht.

Bei Hund 2 wurde während der Evasion bis zum 106. Versuchstag Faeces jeden Tag, Urin jeden Tag und Galle jeden Tag genommen, von dann an wurden Sammelproben von zwei bis sieben Tagen bis zum 184. Versuchstag genommen und die Radioaktivität gemessen. Vollblut und Plasma wurde in unregelmäßigen Abständen abgenommen und die Radioaktivität bestimmt.

An den Versuchstagen 6,8,10,12,17,20-22,24,25,26, 29,31,33,38,41,45,50,54,59,60,61,62,63,64,65,66, 67,68,69,70,71,72,73,74,75,77,78,79,80,82,87,92, 94,95,96,97,99,104,105,113 und 114 wurde der HCB-Gehalt der Galle gaschromatographisch bestimmt und an den Versuchstagen 31,34,39,42,43,46,47,51,55, 60,62,63,64,65,67,68,70,72,73,74,76,77,78,79,80, 82,88,93,94,96,98,99,100,105,113 und 114 wurde der HCB-Gehalt von Faeces gaschromatographisch bestimmt.

An den Versuchstagen 6,8,10,12,17,24,25,28,45,50,66, 67,68,69,70,72,73,75,77 wurde die Galle gaschromatographisch auf den HCB-Gehalt und möglicher Metaboliten untersucht.

Blutuntersuchungen auf die leberspezifischen Enzyme wurden bei beiden Hunden in unregelmäßigen Abständen ausgeführt, ebenso bakteriologische Untersuchungen der Gallenflüssigkeit.

Die Behandlung mit Paraffin (zeitlich) geht aus dem Versuchsablauf hervor; Paraffin, in das Futter (bestehend aus Hundeflocken, Hackfleisch und Wasser) eingemischt, wurde bereitwillig aufgenommen.

6. Analytische Methoden

a) Bestimmung der Radioaktivität (r.a.) in Faeces, Galle, Vollblut und Plasma

Faeces wurde mit drei bis vier Gewichtsteilen Wasser verdünnt und drei Minuten mit einem Ultra-Turrax^R homogenisiert. Vier Proben des Faeceshomogenats (ca 900-1000 mg/probe), zwei bis vier Proben Galle (ca 200-300 mg/Probe) wurden in combustion cones eingewogen und nach Trocknung unter dem Abzug im Sample Oxidizer zu CO₂ verbrannt. Sie wurden in einem Gemisch von 8 ml Carbosorb und 12 ml Permafluor aufgefangen und die r.a. im Szintillationszähler gemessen. Täglich wurden zusätzlich einige ¹⁴C-Standards verbrannt, um die Wiederfindungsrate des Probenverbrennungsgerätes zu kontrollieren. Die Wiederfindungsrate der Radioaktivität war dem angeschlossenen Rechner eingegeben und die Werte (dpm) wurden bereits korrigiert ausgedruckt.

b) Bestimmung der Radioaktivität (r.a.) im Urin

Drei Proben zu je 0,250 bis 0,500 ml wurden direkt in Szintillationsgefäße pipettiert und mit 20 ml Dioxan gemischt und die r.a. im Flüssigszintillationszähler bestimmt. Dabei war die Kurve der Wieder-

findungsrate der r.a. im Dioxan dem angeschlossenen Rechner eingegeben, so daß die Werte bereits korrigiert ausgedruckt wurden.

c) Gaschromatographische HCB-Bestimmung in Faeces- und Galleproben

1. Vorbereitung und Reinigung von Geräten und Reagentien

Hexan wurde vor seiner Verwendung über eine Säule mit Aluminiumoxid gereinigt, wobei für 2,5 l Hexan eine 60 cm lange Glassäule mit 3 cm Innendurchmesser benötigt wird. Die ersten 200 ml Hexan wurden verworfen. Alle Glas- und Porzellengefäße wurden vor Gebrauch zunächst mit Aceton, dann mit Wasser und Seife gereinigt und anschließend mit aqua dest. gespült. Geräte aus Kunststoff wurden nicht verwendet, da sich häufig aus diesem Material Verunreinigungen extrahieren lassen, die in der Gaschromatographie erheblich stören können.

2. Probenaufbereitung

Zur Trocknung des Untersuchungsmaterials wurden etwa 1,5 bis 2,0 mg Faeces mit 20 bis 30 g Natriumsulfat bzw. 1 bis 1,5 mg Galle mit 20 g Na_2SO_4 in einer Reibschale verrieben. Zur HCB-Extraktion wurde das Gemisch quantitativ in die Chromatographiesäulen überführt und mit 50 ml Hexan extrahiert. Der Extrakt wurde in einem Rundkolben aufgefangen und mit einem Rotavapor bei 30 °C Wassertemperatur auf 1,0 bis 2,0 ml eingeeengt und mit Hexan auf ein bekanntes Volumen gebracht. Zur Fettabtrennung und weiteren Reinigung wurde der eingeeengte Extrakt quantitativ mit Hilfe von Pasteurpipetten auf eine mit 2,0 g Kieselgel gefüllte 10 ml Glaspipette, die an ihrem

verjüngten Ende mit Watte verstopft war überführt und mit 20 ml Hexan eluiert. Das in einem Spitzkolben aufgefangene Eluat wurde auf 1,0 bis 2,0 ml eingengt und mit Hexan auf ein bekanntes Volumen gebracht.

3. Gaschromatographie

Die quantitative Bestimmung von HCB erfolgte gaschromatographisch unter Verwendung eines Gerätes der Fa. Hewlett Packard. Die Retentionszeit von HCB lag bei den gegebenen Bedingungen des Gerätes etwa bei 2,3 Minuten. Die Einspritzmenge betrug zwischen 2,0 und 4,0 μ l der Analysenlösung. Die Auswertung erfolgte anhand der Peakfläche und deren Vergleich mit einem externen Standard von ähnlicher Konzentration wie der der Analysenlösung.

d) Gaschromatographische Bestimmung von HCB und seiner Metaboliten in Gallenproben

1. Vorbereitung und Reinigung von Geräten und Reagentien

Siehe unter 6.c) 1.

2. Probenaufbereitung

Um in den Gallenproben den Gehalt von HCB und seiner Metaboliten zu bestimmen, wurden jeweils ca 1 ml Galle mit 1 ml 2 N Natronlauge versetzt und drei Stunden im Wasserbad bei 70 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde diese Lösung mit konzentrierter Salzsäure auf einen pH von 1 bis 2 eingestellt. Es wurde mit 2,0 ml n-Hexan versetzt, kräftig geschüttelt und 10 Minuten bei 3000 upm zentrifugiert. Der Hexan-Überstand wurde abgenommen und der Vorgang zweimal

mit je 2,0 ml n-Hexan wiederholt. Die vereinigten Hexanphasen wurden mit einer Lösung von Diazomethan in n-Hexan versetzt; um die Phenole zu methylieren. Anschließend wurde diese Lösung in 25 ml Spitzkolben überführt und bei 30 °C vorsichtig am Rotavapor auf ca 0,5 ml eingengt. Die Hexanlösung wurde in tarierte 10 ml Zentrifugengläser mit Schraubverschluß überführt und mit wenig Hexan nachgespült und die Gesamtmenge Hexan gravimetrisch bestimmt. Anschließend wurde mit 4,0 ml konzentrierter Schwefelsäure kräftig geschüttelt und 10 Minuten bei 3000 upm zentrifugiert. Ein Aliquot der Hexanlösung wurde abgenommen und mit weiteren 4,0 ml konzentrierter Schwefelsäure kräftig geschüttelt und zentrifugiert.

3. Gaschromatographie

Die quantitative Bestimmung von HCB und seiner Metaboliten erfolgte wie unter 6.c) 3..

7. Auswertung und Berechnung

a) Wiederauffindungsrate der Gaschromatographie Analyse (GC-Analyse)

Sechs Proben Galle (1,0 bis 1,5 ml) von einem nicht mit HCB behandelten Hund, wurden mit je 0,5 ml einer HCB-Lösung ($1,605 \times 10^{-6}$ g/ml) versetzt, das Hexan abgedampft und die Proben wie unter 6.c) 2. beschrieben analysiert. Zwei Proben der gleichen Galle wurden ohne HCB-Zusatz untersucht. Sie enthielten keinen meßbaren HCB-Rückstand (<1 ng/ml Galle). Von der zugesetzten HCB-Menge wurde in den sechs Proben

94,7 ± 2,3 % wiedergefunden. Bei der Bestimmung von HCB und seiner Metaboliten wurde auf die Bestimmung einer Wiederauffindungsrate verzichtet.

b) Gaschromatographische Auswertung

Die Peaks der Analysenlösung wurden zur Auswertung mit entsprechenden Peaks der Standardlösung verglichen. Von einem Integrator wurden die Flächen unter den Peaks berechnet und in Flächeneinheiten (AR) ausgedruckt. Die Wiederauffindungsrate ging nicht mit in die Rechnung ein.

Die Standardlösung bzw. deren Peaks wurden zur Berücksichtigung von Empfindlichkeitsschwankungen des Gaschromatographen morgens, mittags und abends bestimmt und der Mittelwert der Flächeneinheiten ergab den jeweiligen Tagesstandard.

Die HCB-Konzentration und die Konzentration seiner Metaboliten in den untersuchten Faeces- und Galleproben, ergab sich aus mindestens zweimaliger Einspritzung der Analysenlösung von 2,0 bis 4,0 µl und dem daraus errechneten Mittelwert der Flächeneinheiten.

$$C = \frac{F \times P \times V_A}{E \times V_E}$$

- C : Konzentration von HCB/und Metaboliten in Faeces- bzw. Galleproben (ppb),
 E : Probeeinwaage zur Analyse (g),
 V_A : Gesamtvolumen der Analysenlösung (ml),
 V_E : Einspritzvolumen der Analysenlösung (µl),
 F : Faktor, Peakfläche des Tagesstandard (ng/AR),
 P : Peakflächen (AR).

GC-Standard für 3 % QF-1 Säule: Abbildung 7

Peak-Nr.	Substanz	10^{-9} g/ml	RRT
1	2,4,6-Trichloranisol	72,0	0.43
2	2,3,6-Trichloranisol	85,4	0.49
3	Pentachlorbenzol	73,8	0.62
4	2,3,5,6-Tetrachloranisol	92,9	0.69
5	2,3,4-Trichloranisol	108,8	0.76
6	Hexachlorbenzol	80,4	1.00
7	Pentachloranisol	58,3	1.19
8	2,3,4,5-Tetrachlorthioanisol	179,2	1.73
9	Pentachlorthioanisol	87,1	2.16
10	2,3,5,6- Tetrachlordithioanisol	460,0	4.88

Mögliche Überschneidungen auf der 3 % QF-1 Säule

Peak-Nr.

- 3 dafür 2,4,5-/2,3,5-/3,4,5-Trichloranisol
- 4 dafür 2,3,4,6-Tetrachloranisol
- 7 dafür 2,3,4,5-Tetrachloranisol,
 2,3,5,6-/2,3,4,6-Tetrachlorthioanisol
- 8 dafür Pentachlornitrobenzol



Abbildung 7: Gaschromatographisches Spektrum von HCB (6) und seiner Metaboliten

c) Auswertung der Radioaktivität

Die Umrechnung der im Flüssigszintillationszähler ermittelten dpm in μg HCB erfolgte mit einem SR-56- Rechner von Texas Instruments. Die HCB-Menge in pg (10^{-12} g) errechnet sich aus dem dpm-Wert nach Abzug des mittleren Nullwertes mit einem Umrechnungsfaktor von 0,003667, der sich aus der spezifischen Aktivität des HCB folgendermaßen ableitet:

$$\begin{aligned}
 \text{spezifische Aktivität des HCB} &= 0,47 \text{ mCi/mMol HCB} \\
 &= 0,47 \text{ mCi}/284,78 \text{ mg HCB} \\
 (1 \text{ mCi} &= 2,2222 \times 10^9 \text{ dpm}) &= 0,47 \times 2,2222 \times 10^9 \text{ dpm} \\
 &\quad /284,78 \text{ mg} \\
 (1 \text{ mg} &= 10^9 \text{ pg}) &= 0,47 \times 2,2222 \text{ dpm}/284,78 \text{ pg} \\
 &= 0,003667 \text{ dpm/pg}
 \end{aligned}$$

Das Probengewicht in mg wurde mit eingegeben und so für jede Probe der jeweilige HCB-Wert in ppb erhalten.

$$\text{HCB (ppb)} = \frac{\text{dpm}_{\text{Probe}} - \text{dpm}_{\text{Nullwert}}}{0,003667 \times \text{Probengewicht (mg)}}$$

Bei Urin und Faeces (drei bzw. vier Parallelproben) wurden Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s_x) berechnet. War s_x größer als 10 % von $\bar{x}$, dann wurden weitere Urin- bzw Faecesproben analysiert. Ebenso wurde bei den Galleproben verfahren, wenn die beiden Parallelproben um mehr als 10 % voneinander abwichen. Durch Multiplikation der Mittelwerte von Urin und Faeces mit deren Tagesmengen in kg wurden die gesamt ausgeschiedenen HCB-Mengen/Tag berechnet.

d) Statistische Auswertungen

Die Anpassung der HCB-Konzentration in der Galle bzw der täglichen Gesamtausscheidung von HCB in Urin und Faeces wurde während der Invasion mit folgendem Kompartimentmodell mit bis zu drei Kompartiments versucht:

$$C(t) = C_1 x e^{-k_1 t} + C_2 x e^{-k_2 t} + C_3 x e^{-k_3 t}$$

Dabei besitzen die Symbole folgende Bedeutung:

- $C(t)$: HCB-Konzentration (ppm, Galle) bzw HCB-Menge (μ g, Urin - Faeces) zur Zeit t ,
- C_{1-3} : Konstante des ersten bis dritten Kompartiments (ppm bzw μ g),
- k_{1-3} : Ausscheidungskonstante des ersten bis dritten Kompartiments (Tag^{-1}),
- t : Ausscheidungstag.

Die Berechnungen wurden am Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Statistik und Biomathe-matik mit dem Siemens 4004/151 Computer gemäß dem Biomedical computer program nach Dixon (163) durchgeführt.

Die besten Anpassungen wurden mit 1- und 2-Kompartments erzielt, das 3-Kompartiment brachte in keinem Fall eine Verbesserung.

Die während der Invasion ermittelten Werte wurden mit Hilfe desselben Computerprogramms der folgenden Gleichung angepaßt:

$$C(t) = C_p \times (1 - e^{-k t})$$

Dabei besitzen die Symbole folgende Bedeutung:

- $C(t)$: HCB-Konzentration in der Galle zur Zeit t (ppm), bzw HCB-Menge im Urin und in den Faeces (μg) zur Zeit t ,
- C_p : Plateaukonzentration von Galle, Urin und Faeces für $t \rightarrow \infty$ (ppm),
- k : Einbaukonstante,
- t : Versuchstag (Tag^{-1}).

8. Ergebnisse

a) Versuchsverlauf

Beide Hunde wurden 14 bzw 21 Tage nach der Operation auf das Allgemeinbefinden, auf die Futteraufnahme, auf einen geregelten Harn- und Kotabsatz und auf einen ungestörten Gallefluß hin untersucht. Vor und nach der Operation wurden Blutuntersuchungen durchgeführt.

Am neunten Tag nach der Operation musste Hund 1 einer Kurznarkose unterzogen werden, um den sich lösenden U-Bügel neu einzusetzen. Es hatte sich herausgestellt, daß dieser Hund mit den Zähnen an die Bügel und an das Täschchen kam. Dies konnte durch Anlegen einer Halskrause (Fa. Hauptner) verhindert werden. Bei Hund 2 war die Lage des Verbindungsstückes optimal gewählt, so daß hier auf eine Halskrause verzichtet werden konnte.

Beide Hunde zeigten gutes Allgemeinbefinden, so daß Hund 1 nach 21 Tagen und Hund 2 nach 14 Tagen in den eigentlichen HCB-Versuch genommen werden konnte.

Hund 1 war bis zum 24. Versuchstag munter. Das Allgemeinbefinden und die Futteraufnahme waren gut, Kot- und Harnabsatz regelmäßig. Am 25. Versuchstag trat plötzlich ein Gallestau ein (die Galle ließ sich nur sehr schwer mit einer Spritze abziehen), der sich aber innerhalb eines Tages von selbst wieder behob. Vom 48. Versuchstag an war das Allgemeinbefinden des Hundes gestört, die Futteraufnahme schlecht, die Temperatur erhöht, der Kotabsatz sehr unregelmäßig und der Gallefluß und die Gallebeschaffenheit (schleimig bis wässrig, grün-gelb bis dunkeloliv, manchmal stark stinkend) in unregelmäßigen Abständen gestört. Eine medikamentöse Behandlung mit Bactrim^R und Cholspasmin^R per os, bzw. Hymecromon^R per Katheter und eine orale Corticoidbehandlung brachte zwar hin und wieder Besserung, doch wurden für den eigentlichen Versuch der HCB-Ausscheidung keine Aussage kräftigen Werte mehr erhalten. Am 112. Versuchstag wurde der Hund einer Durchleuchtung unterzogen (Darstellung der Gallenblase und der zu- und abführenden Gänge mit Conray^R 60). Es zeigte sich eine ampullenartige Erweiterung im Ductus choledochus vor dem zuführenden Katheter, die eine mögliche Ursache für den ständig wiederkehrenden Gallestau und die Störungen des Allgemeinbefindens war. Hund 1 wurde am 114. Versuchstag eingeschläfert. Die Sektion ergab folgende Befunde:

Stark epithelialisierte, frei durchgängige Katheter, kleinhühnereigroße Ausweitung des Ductus choledochus vor dem Katheter; Ductus hepatici gut 2 cm stark; stark geschrumpfte Gallenblase ohne Flüssigkeit; ausgeprägte Leberschwellung mit deutlicher Cholestase

und zentrolobulärer Degeneration; eitrige Cholangitis und Pericholangitis (bakteriologisch E.coli); follikuläre Milzschwellung; hydropische Tubulus-epitheldegeneration in den proximalen und distalen Nierentubuli; acholischer Stuhl im gesamten Darm, zum Teil unverdaute Futterpartikel in Colon und Rektum.

Hund 2 zeigte während des ganzen HCB-Versuches sehr gutes Allgemeinbefinden bei guter Futteraufnahme, regelmäßigem Kot- und Harnabsatz und ungestörten Gallefluß. Ab dem 120. Versuchstag kam es dann langsam zu einer immer schlechteren Futteraufnahme mit leicht gestörtem Allgemeinbefinden. Der Gallefluß war nicht beeinträchtigt, doch die Galleflüssigkeit war von schleimig-schlieriger Beschaffenheit, etwas stinkend und dunkeloliv. Die bakteriologische Untersuchung der Galleflüssigkeit (mit Erregernachweis und Antibiotogramm) zeigte eine Infizierung mit Staphylococcus aureus und Enterokokken. Mit oraler Bactrim^R und Corticoidbehandlung trat eine Besserung ein. Ebenso wurde der Katheter mehrmals am Tage mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und das T-Stück (hier befand sich Detritus) wurde ausgewechselt. Eine nochmalige Störung des Allgemeinbefindens und der Gallebeschaffenheit um den 155. Versuchstag wurde nach bakteriologischer Abklärung, (unveränderte Resistenzlage), ebenso behandelt und konnte gut überwunden werden. Eine Durchleuchtung ergab hier eine ampullenartige Erweiterung des Ductus choledochus vor dem zuführenden Katheter. Am 184. Versuchstag zeigte der Hund ein massiv gestörtes Allgemeinbefinden. Er hatte sich über Nacht das T-Stück herausgerissen, vermutlich weil sich der Reißverschluß des Täschchens geöffnet hatte. Nachdem beide Katheter nicht mehr durch-

gänglich waren, wurde der Hund eingeschläfert. Die Sektion ergab folgende Befunde: Cholestase mit etwa bleistiftdickem Ductus choledochus, erweiterten Ductus hepatici und Ductus cysticus, etwa hühnereigroße mit Galle gefüllte Gallenblase, geringgradige Leberschwellung; zuführender Katheter nicht mehr im Ductus choledochus, aber durch starke Epithelialisierung keine freie Verbindung zur Bauchhöhle.

b) Versuchsergebnisse.

I. Klinische Blutuntersuchungen

Die Blutuntersuchungen wurden bei Hund 1 etwa vier Monate und bei Hund 2 etwa sechs Monate lang durchgeführt; dabei wurde vor allem auf die Leberfunktion in Anbetracht des permanenten Gallengangkatheters Wert gelegt.

Die sogenannten "cholestase" anzeigenden Enzyme γ -GT (γ -Glutamyl-Transferase und die APH (alkalische Phosphatase), ebenso die Transaminasen (GOT und GPT) und die GLDH (Glutamat-Dehydrogenase) und das Bilirubin wurden bestimmt (161).

Die Verlaufsformen dieser Blutwerte bei Hund 1 und Hund 2 ergeben sich aus den Abbildungen 8 bis 15.

Bei Hund 1 wird etwa vom ersten Versuchstag an, durch den steilen und hohen Anstieg der APH (bis 19338 mU/ml) und den gleichzeitigen Anstieg der γ -GT (bis 218 mU/ml), eine Behinderung des Galleflusses angezeigt, der sich auch durch die klinische Symptomatik verfestigte. Der Anstieg der GLDH zusammen mit dem steileren Anstieg der Transaminasen deutet ebenfalls etwa vom ersten Versuchstag an auf eine akute Leberentzündung hin. Besonders die Erhöhung der GPT, ein

Enzym das fast ausschließlich in der Leber in deren Zytoplasma lokalisiert ist, zeigt eine akute Leberentzündung an. Die Erhöhung des bis zum 62. Versuchstags normalen Bilirubins und zwar die Erhöhung des gesamt Bilirubins und die gleichzeitige Erhöhung des direkten Bilirubins, läßt auf einen posthepatischen Ikterus schließen. Durch eine Behandlung konnte auch keine befriedigende Besserung erreicht werden und die Blutwerte blieben bis zuletzt wesentlich erhöht. Das massiv gestörte Allgemeinbefinden, zusammen mit den erhöhten Blutwerten und der klinischen Symptomatik, ließen zu, eine chronische Hepatopathie unter Einbeziehung der Gallenblase und der Gallengänge anzunehmen und führten zum Entschluß den Hund einzuschläfern.

Bei Hund 2 fallen kurz nach der Operation erhöhte Blutwerte auf; vor allem eine Erhöhung der GPT und der GLDH und eine geringgradige Erhöhung der APh, die aber Ausdruck der Operation sind und sich nach einigen Tagen wieder normalisieren. Um den 120. Versuchstag, von da es auch zu einer immer schlechteren Futteraufnahme kam und ein leicht gestörtes Allgemeinbefinden zu verzeichnen war, steigen die Blutwerte an.

Die γ -GT erreicht am 141. Versuchstag mit 77 mU/ml ihren Höchstwert und die APh am 159. Versuchstag mit 7 490 mU/ml ihren Höchstwert. Zusammen mit dem Anstieg des Bilirubins kann diese Erhöhung oben genannter Enzyme als Zeichen einer Cholestase gewertet werden. Auf eine Mitbeteiligung der Leber in Form einer akuten Leberentzündung, lassen die Erhöhung der GLDH zusammen mit dem steileren Anstieg der Transaminasen vorallem der GPT schließen. Nach spezifischer Behandlung (Erregernachweis mit Antibiogramm) sinken die Blutwerte beinahe auf ihre Normalwerte zurück und lassen den Schluß zu,

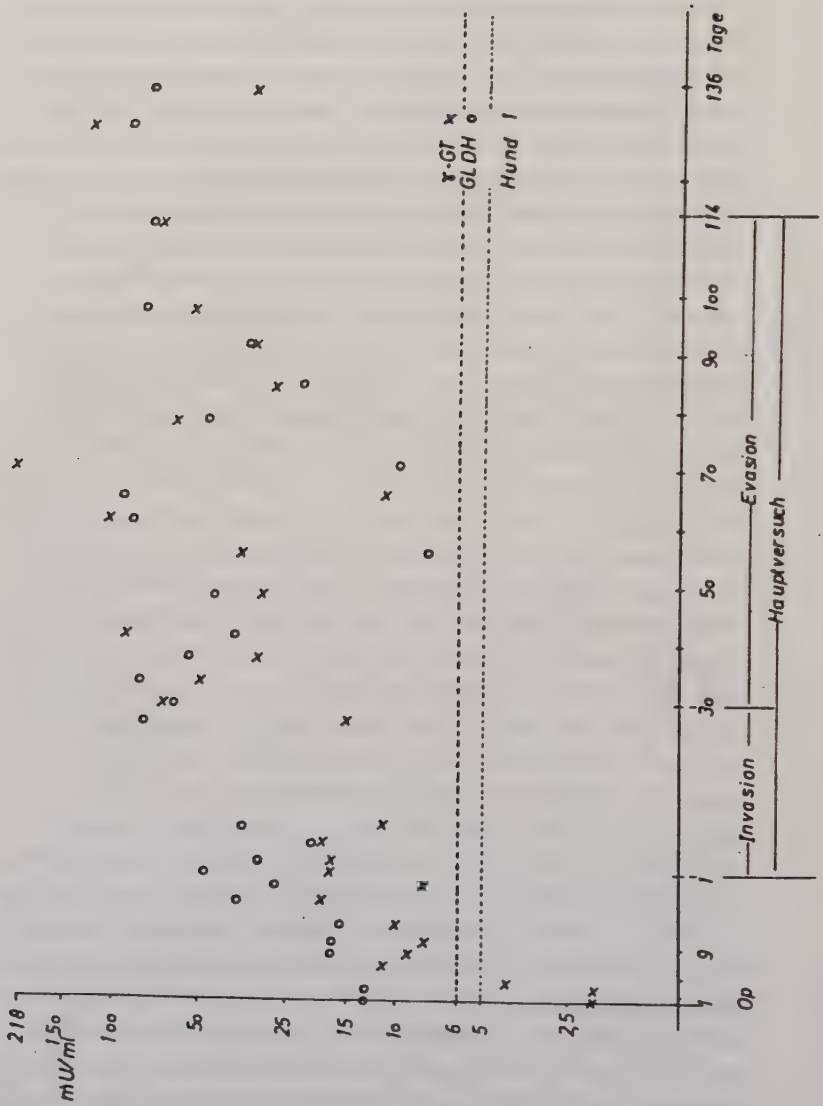
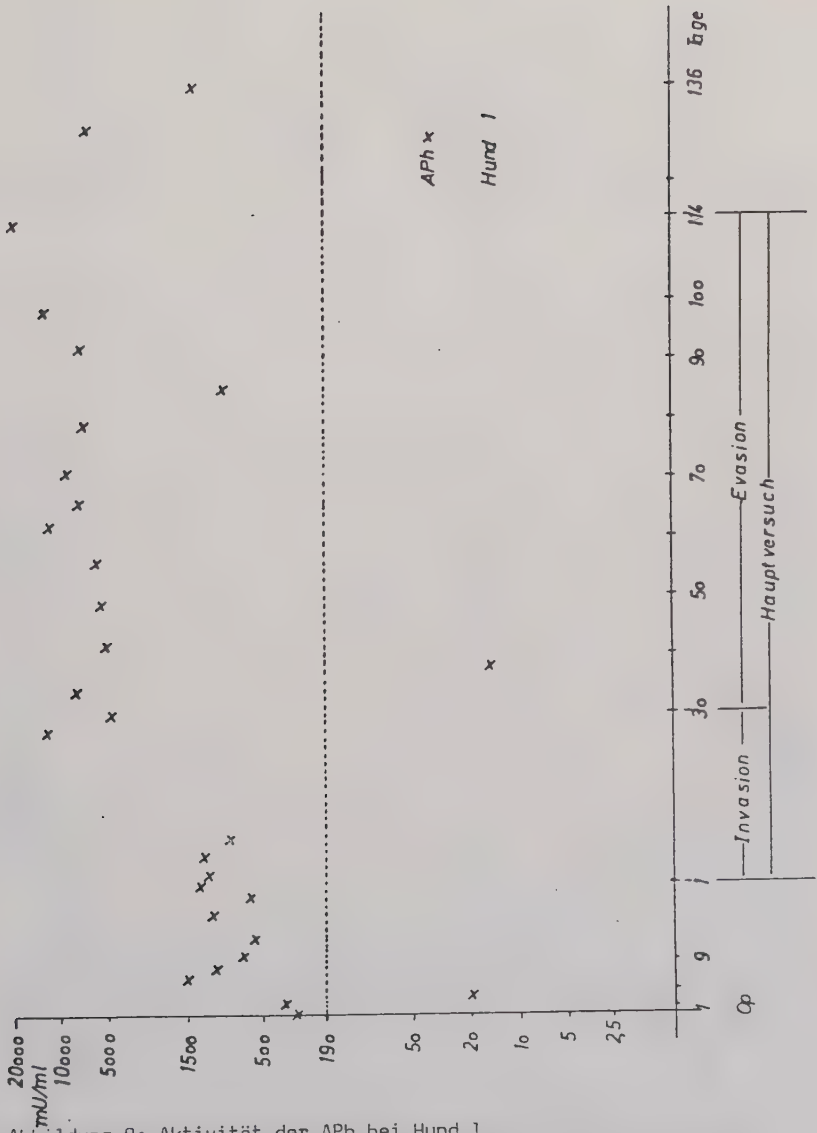


Abbildung 8: Aktivität von γ -GT und GLDH bei Hund 1



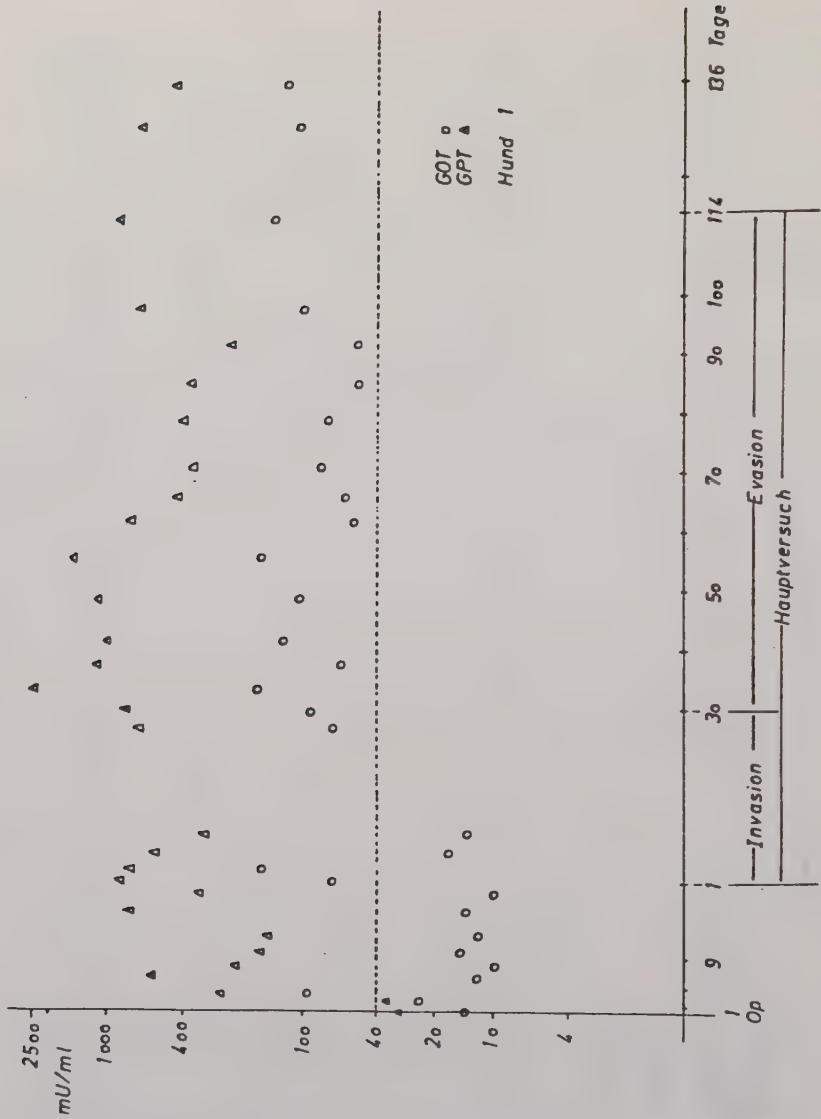


Abbildung 10: Aktivität der GOT und der GPT bei Hund 1

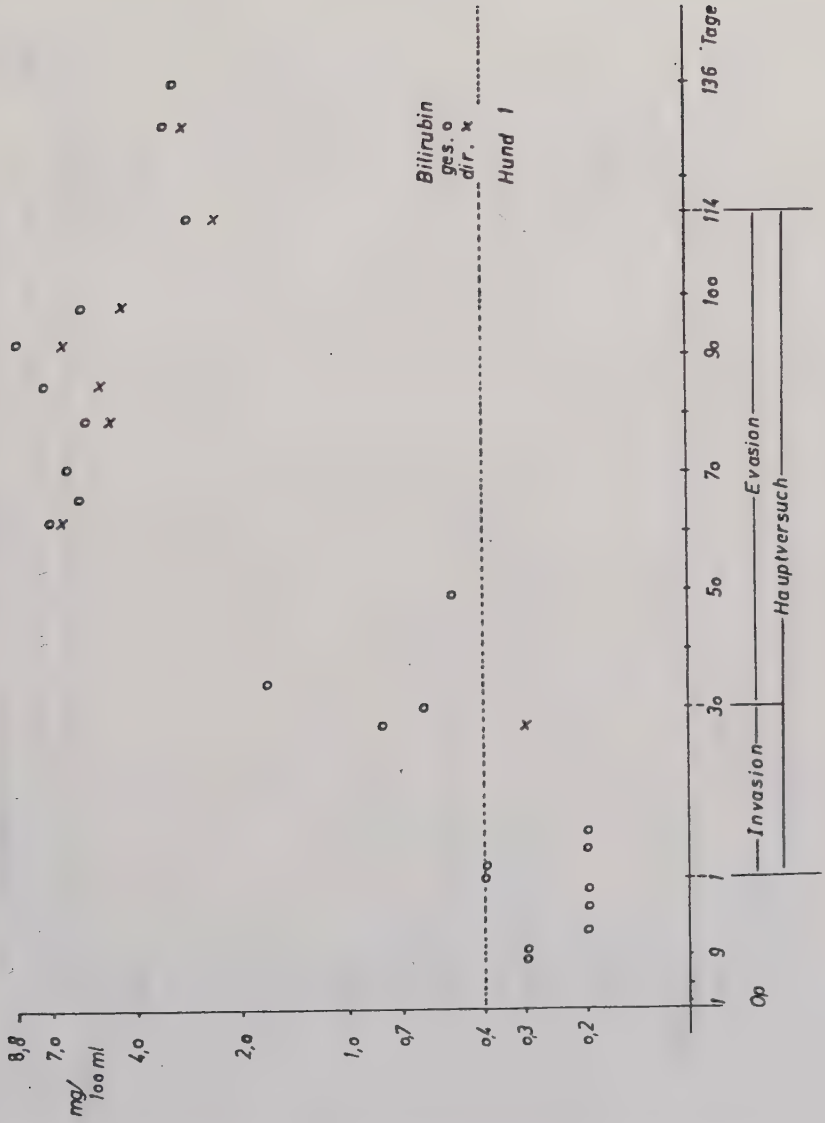


Abbildung 11: Aktivität von Bilirubin (ges. und direkt) bei Hund 1

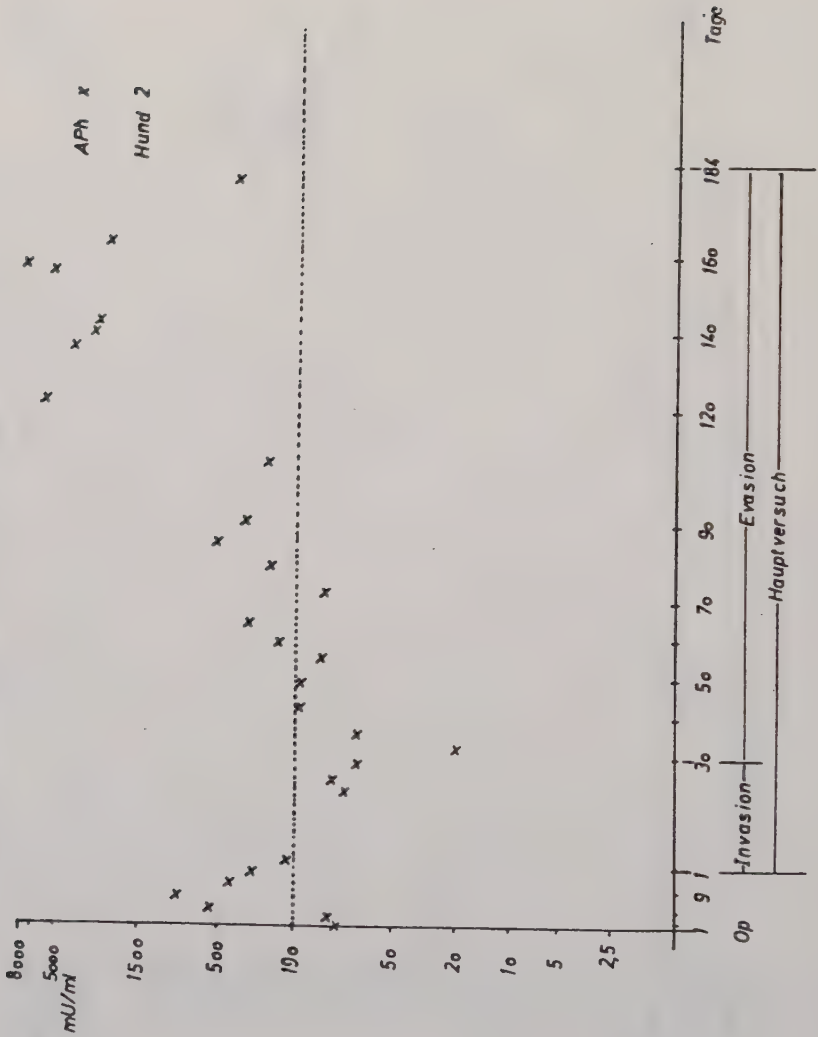


Abbildung 13: Aktivität der APh bei Hund 2

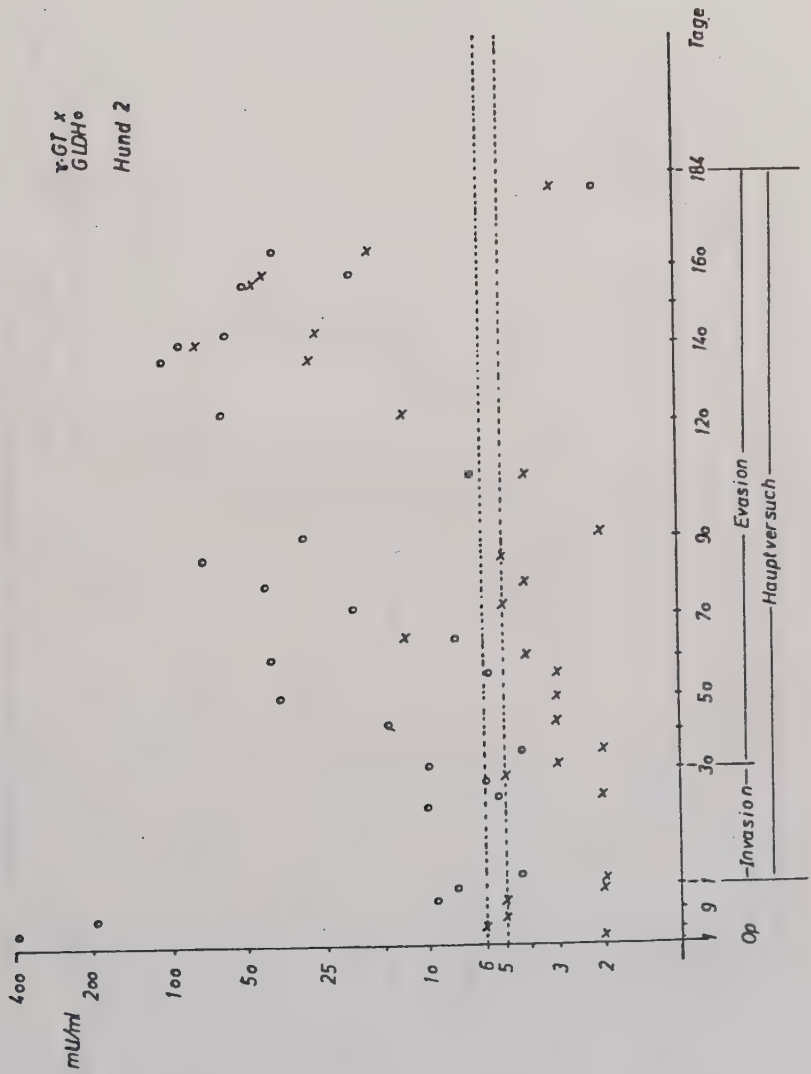


Abbildung 12: Aktivität von γ -GT und GLDH bei Hund 2

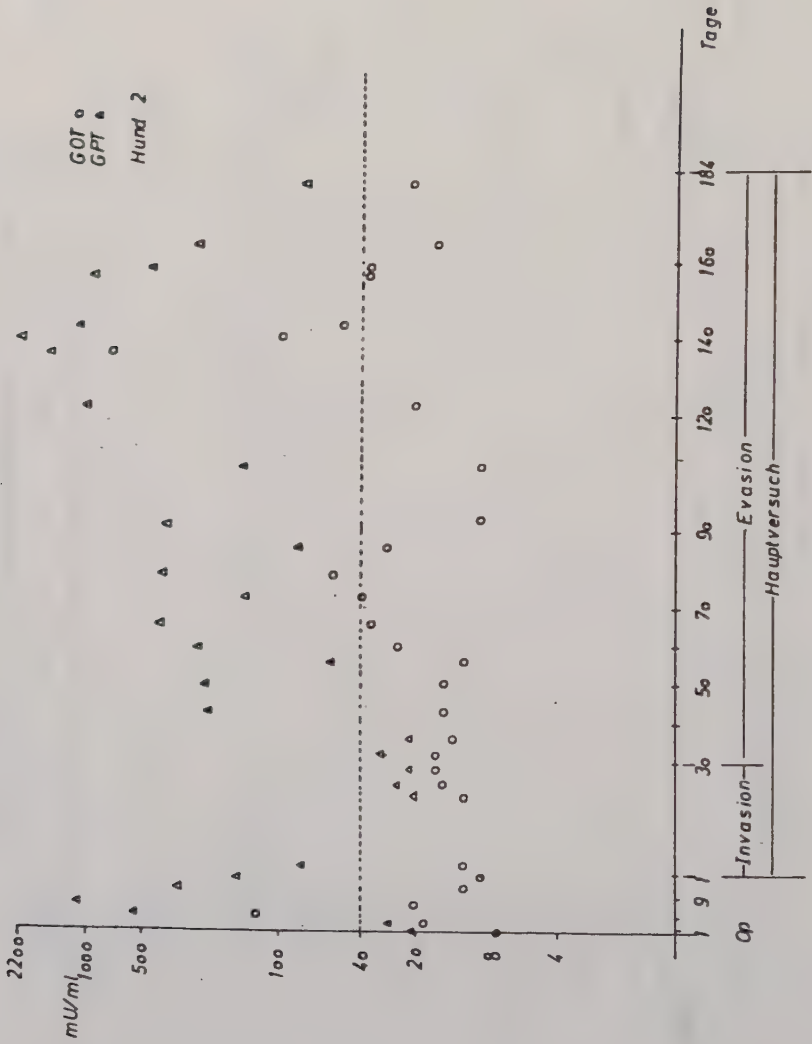


Abbildung 14: Aktivität der GOT und der GPT bei Hund 2

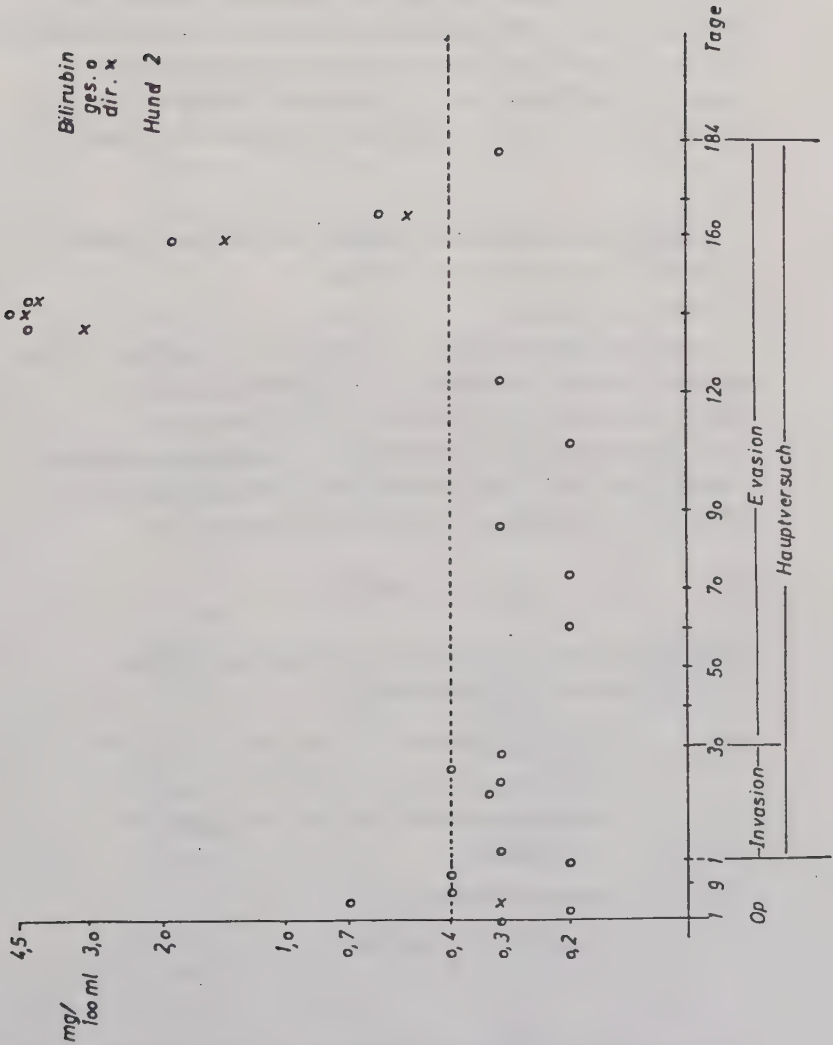


Abbildung 15: Aktivität von Bilirubin (ges. und direkt) bei Hund 2

daß der Hund das akute Krankheitsgeschehen überwunden haben dürfte. Beweisend dafür ist auch die Besserung der Futteraufnahme und des Allgemeinbefindens. Der Entschluß den Hund einzuschläfern fand seine Berechtigung darin, den vom Hund selbst herausgerissenen Katheter nicht mehr neu befestigen zu können und in dem plötzlich massiv gestörten Allgemeinbefinden.

II. Verteilung und Ausscheidung der Radioaktivität (r.a.) während der Invasion

1. Blut und Galle

Die nebenstehende Tabelle 3 gibt die Konzentration der Radioaktivität, berechnet als Hexachlorbenzol für Hund 1 und Hund 2 während der Invasion an.

Die Auswertung der in Tabelle 3 angegebenen Meßwerte ergibt, daß sich die HCB-Konzentration in der Galle während der Invasion durch die Beziehung

$$C_{(t)} = C_p \times (1 - e^{-kt})$$

beschreiben läßt, wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung besitzen:

$C_{(t)}$: HCB-Konzentration in der Galle zur Zeit
 t (ppm),

C_p : Plateaukonzentration in der Galle für
 $t \rightarrow \infty$ (ppm),

k : Einbaukonstante,

t : Versuchstag (Tag^{-1}).

Tabelle 3: Konzentration der Radioaktivität, berechnet als HCB (ppb) in Galle und im Blut während der Invasion

Tage	Hund 1		Hund 2	
	Galle	Blut	Galle	Blut
1	381,1	n.n.	77,7	n.n.
2	664,9	20,9	245,9	9,5
3	1654,0	20,5	774,8	9,9
4	1845,0	25,4	1053,0	5,6
5	2247,0	19,8	1509,5	7,1
6	3767,0	40,7	1430,5	26,3
7	2667,0	38,5	1838,0	29,5
8	1668,0	20,8	2363,0	26,1
9	2032,0	36,5	2873,0	119,9
10	3358,0	34,3	4800,0	12,9
11	5247,0	34,1	3172,5	16,5
12	4985,0	40,9	3382,0	31,1
13	4211,0	35,7	3391,5	25,5
14	2883,0	41,0	2794,3	17,4
15	5301,0	76,7	2746,0	26,3
16	5162,0	n.a.	7663,7	n.a.
17	3484,0	41,7	3186,5	19,3
18	1841,0	n.a.	2544,5	n.a.
19	2523,0	53,1	4331,7	18,5
20	2559,6	n.a.	3262,2	n.a.
21	4336,0	41,6	2741,8	26,4
22	3760,0	n.a.	2865,2	n.a.
23	6989,0	76,5	3586,5	48,5
24	821,4	n.a.	5202,0	n.a.
25	1308,0	83,0	2578,9	43,1

Tabelle 3: Fortsetzung

26	516,7	n.a.	2473,6	n.a.
27	988,6	69,8	2995,3	n.a.
28	1367,4	n.a.	3835,3	n.a.
29	1297,0	78,4	6388,5	n.a.
30	1224,0	n.a.	4033,1	56,0

n.n.: nicht nachweisbar; n.a.: nicht analysiert

Für die beiden Hunde wurden für die Galle folgende Konstanten errechnet:

Galle	Hund-Nr.	C_p	k	SS^1	n
	1	2,89	0,3315	72630	30
	2	11,05	0,0201	50269	30

SS^1 : Summe der Quadratabweichungen

Die zugehörigen Funktionen und ihre Anpassungen an die Analysenwerte sind in den Abbildungen 16 und 17 graphisch dargestellt.

In den Abbildungen 18 und 19 wird der Anstieg der Radioaktivität in den ersten Tagen für Hund 1 und Hund 2 in der Galle und im Blut dargestellt.

Bereits nach zwei Stunden wird bei Hund 1 in der Galle r.a. gemessen; im Blut findet man nach acht Stunden die erste Radioaktivität. Nach Abfall erreicht die r.a. im Blut nach 28 Stunden mit 29,0 ppb den zweiten Höhepunkt und am sechsten Tag mit 40,7 ppb den dritten Höhepunkt. Bei Hund 2 sind zeitlich etwa die gleichen Höhepunkte festzustellen.

Die Konzentration der Radioaktivität in der Galle berechnet als HCB, verläuft für beide Hunde etwa parallel und macht die gleichen Schwankungen wie die Verlaufsform der r.a. im Blut; allerdings liegen sie in ihrer Größenordnung etwa um zwei Zehnerpotenzen höher.

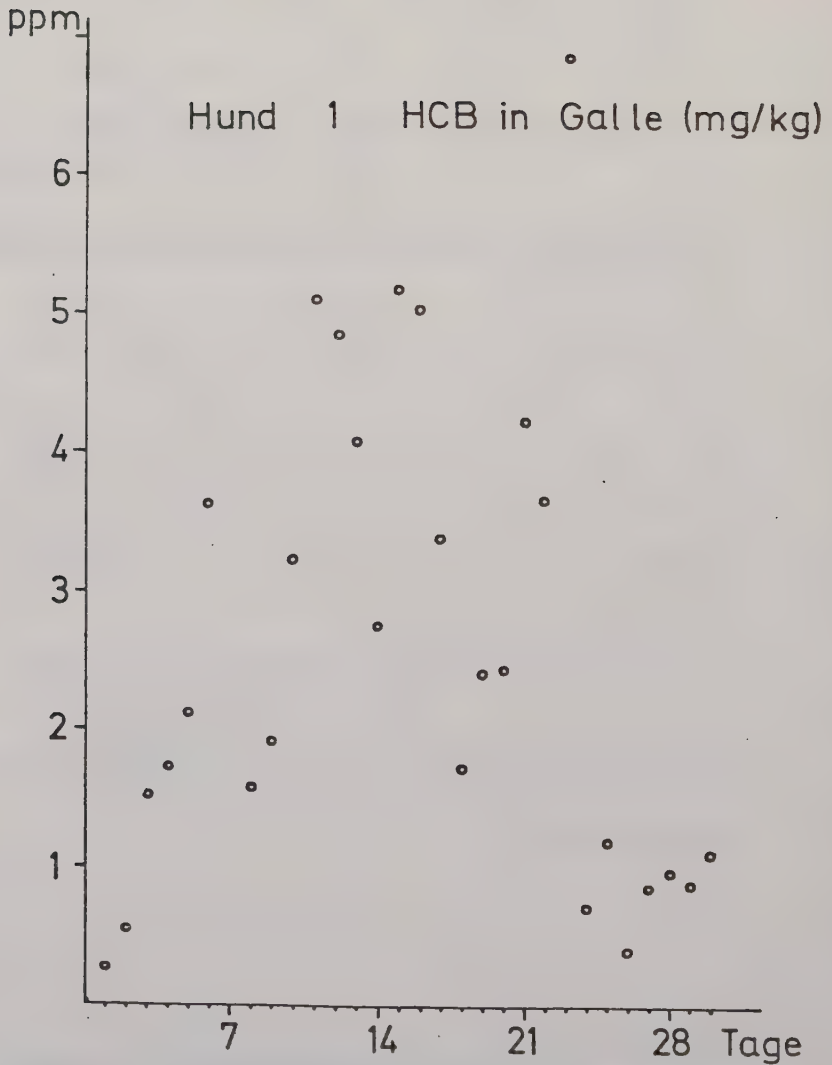


Abbildung 16: Konzentration der r.a. in der Galle, berechnet als HCB, während der Invasion bei Hund 1

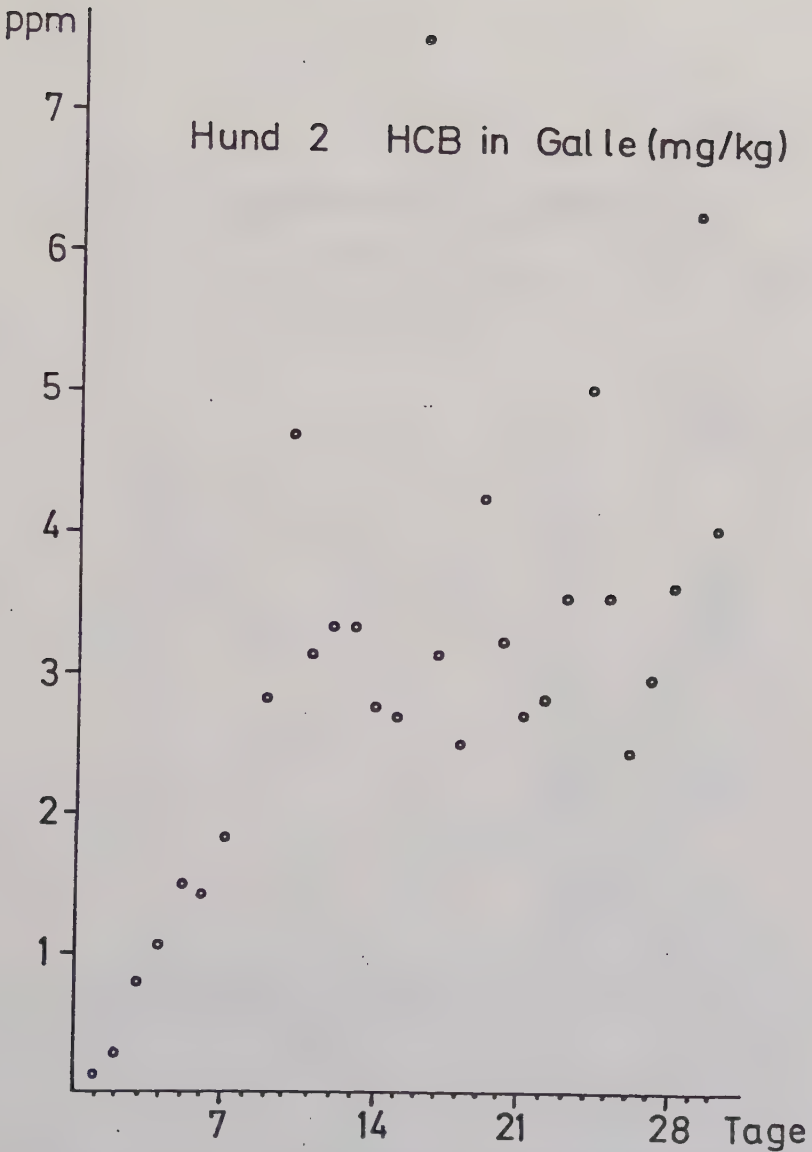


Abbildung 17: Konzentration der r.a. in der Galle, berechnet als HCB, während der Invasion bei Hund 2

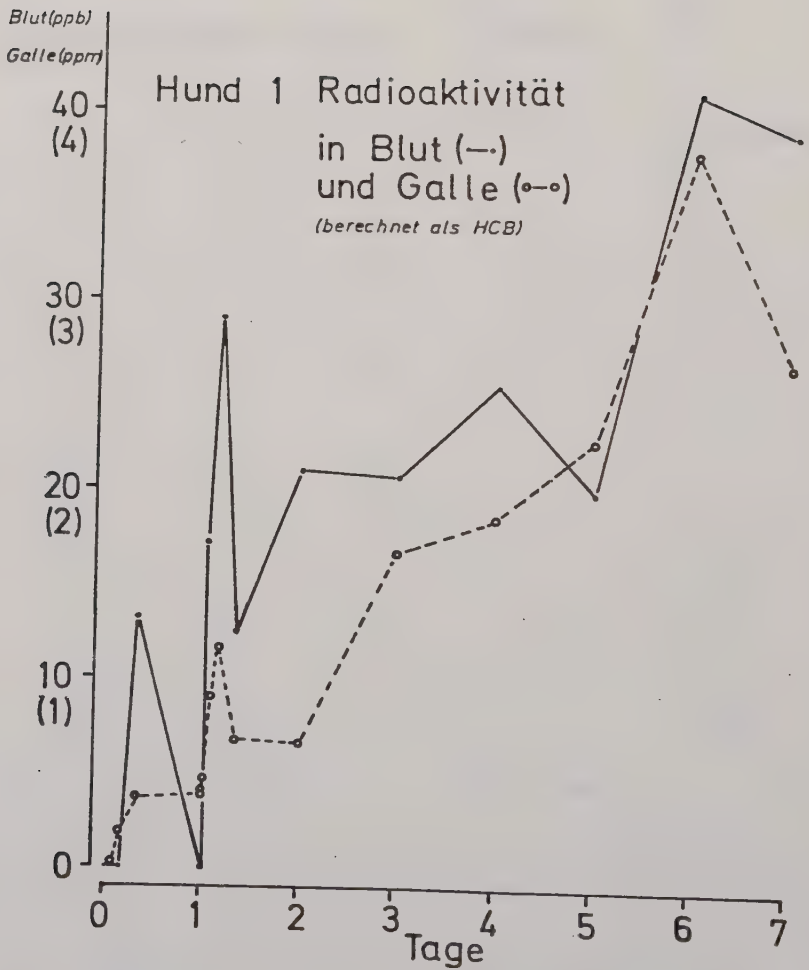


Abbildung 18: Konzentration der r.a. in Blut und Galle, berechnet als HCB, in der ersten Woche der Invasion bei Hund 1

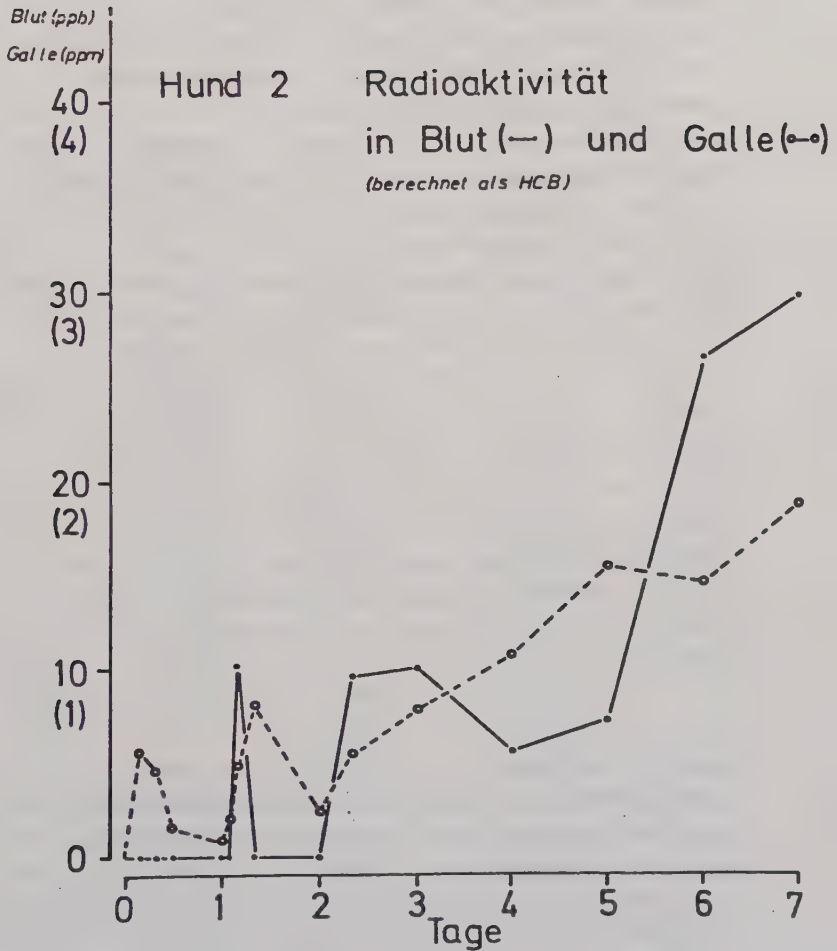


Abbildung 19: Konzentration der r.a. in Blut und Galle, berechnet als HCB, in der ersten Woche der Invasion bei Hund 2

2. Faeces und Urin

Die folgende Tabelle 4 gibt die Ausscheidung von Radioaktivität, berechnet als HCB (μg) für Hund 1 und für Hund 2 während der Invasion an.

Die Schwankungen der Meßwerte in den Faeces sind für beide Hunde derart groß, daß sich keine statistische Auswertung mit Anpassung an eine Kurve nach der Beziehung $C(t) = C_p \times (1 - e^{-kt})$ errechnen läßt. Während der Invasion wurde von Hund 1 nur 27,65 % und von Hund 2 nur 34,3 % der zugeführten HCB-Menge im Körper zurückbehalten.

Die Ausscheidung während der Invasion verteilte sich zwischen Urin und den Faeces folgendermaßen:

	Hund 1	Hund 2
Faeces	67,7 %	63,0 %
Urin	4,65%	1,57%

Die Auswertung der in Tabelle 4 angegebenen Meßwerte für Urin bei Hund 1 und Hund 2 ergibt, daß sich die HCB-Konzentration im Urin während der Invasion ebenfalls durch die Beziehung

$$C(t) = C_p \times (1 - e^{-kt})$$

beschreiben läßt

Die zugehörigen Funktionen und ihre Anpassungen an die Analysenwerte sind in den Abbildungen 20 und 21 graphisch dargestellt.

Folgende Konstanten wurden für Urin bei beiden Hunden errechnet:

Urin	Hund-Nr..	C_p	k	SS^1	n
	1	3013,68	0,00527	797293	29
	2	189,0	0,0598	16478	29

SS^1 : Summe der Quadratabweichungen

Tabelle 4: Ausscheidung von Radioaktivität, berechnet als HCB (μg) in den Faeces und im Urin während der Invasion

Tage	Hund 1		Hund 2	
	Faeces	Urin	Faeces	Urin
1	2738,0	62,1	3505,5	9,2
2	2050,0	76,5	4930,0	23,4
3	2268,0	295,2	1875,0	21,8
4	3860,0	208,4	2174,0	53,4
5	2361,0	115,7	4200,0	54,9
6	4625,0	154,5	5838,0	64,4
7	3233,0	153,0	4436,0	n.a.
8	5305,0	129,0	2561,0	106,3
9	1655,0	136,9	3956,0	105,0
10	3402,0	160,5	4630,0	83,0
11	2550,0	114,2	3366,0	124,5
12	3248,0	107,7	2416,0	97,2
13	3382,0	n.a.	5253,0	92,9
14	4168,0	119,0	2337,0	114,5
15	2142,0	124,3	4611,0	104,8
16	2579,0	154,0	4553,0	74,9
17	4399,0	154,9	2973,0	193,0
18	6969,0	170,0	6666,0	119,4
19	10391,0	168,1	4424,0	130,1
20	2942,0	165,0	4486,0	132,7
21	2603,0	130,0	4172,0	108,0
22	4369,0	140,9	5473,0	107,7
23	1133,0	789,3	4320,0	142,8
24	n.a.	844,2	6160,0	148,7
25	10515,0	519,7	4703,0	153,6

Tabelle 4: Fortsetzung

26	6119,0	551,0	3393,0	118,0
27	3179,0	494,5	3638,0	118,0
28	4004,0	280,3	5160,0	198,0
29	4519,0	276,2	5658,0	154,0
30	3453,0	345,8	4768,0	146,0

n.a.: nicht analysiert

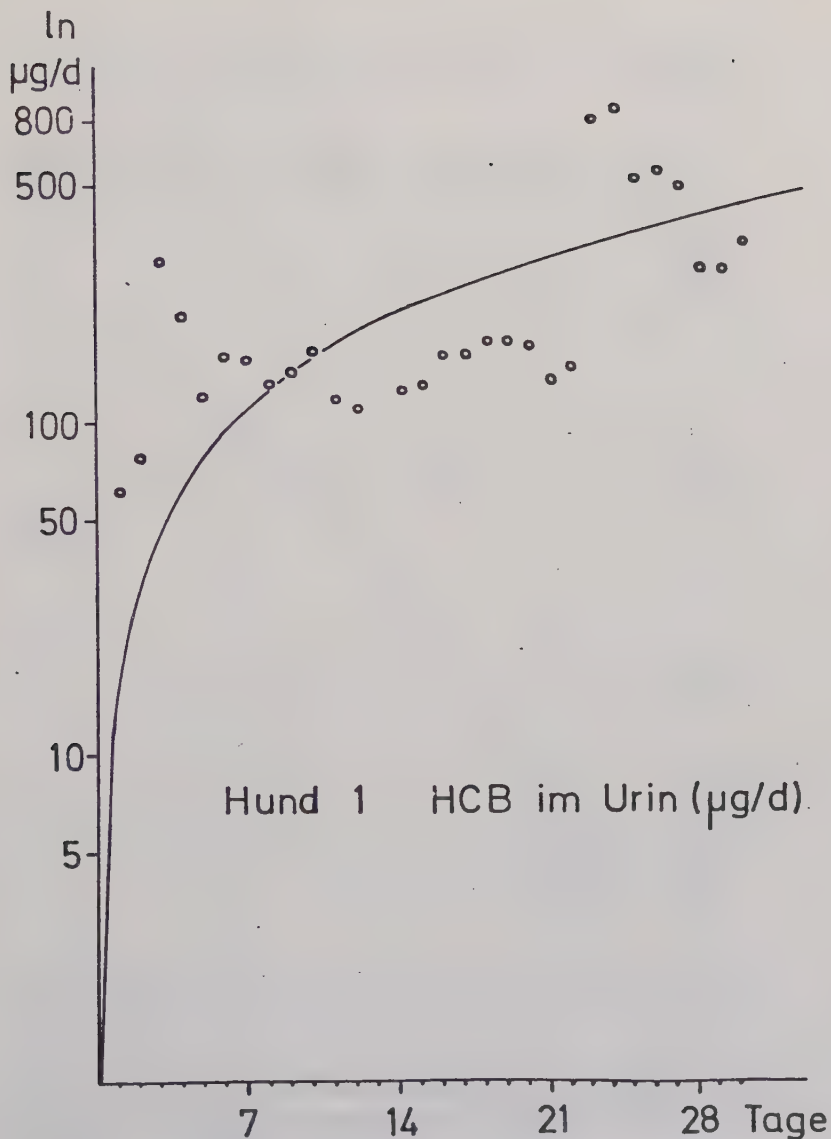


Abbildung 20: Tägliche Ausscheidung von r.a. im Urin, berechnet als HCB, während der Invasion bei Hund 1 (halblog. Darstellung)

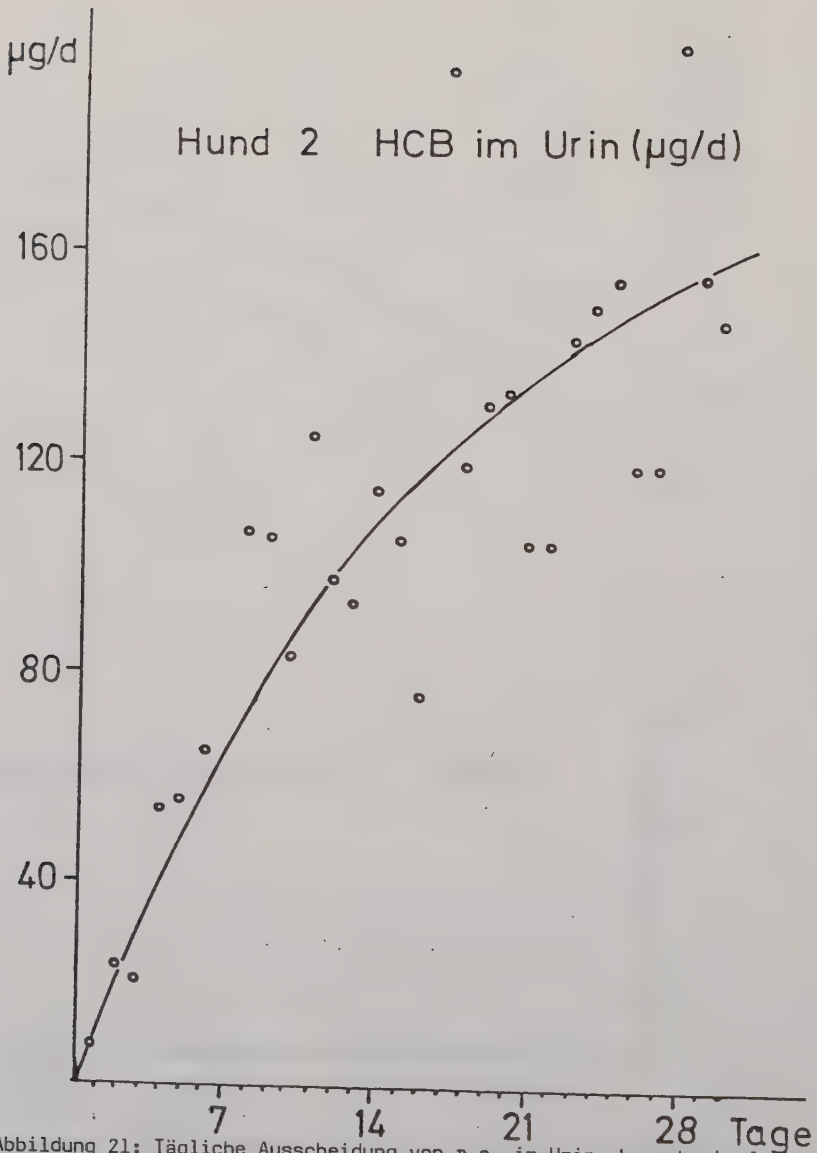


Abbildung 21: Tägliche Ausscheidung von r.a. im Urin, berechnet als HCB, während der Invasion bei Hund 2

III. Verteilung und Ausscheidung der Radioaktivität während der Evasion

1. Blut und Galle

Tabelle 5 gibt die Konzentration der Radioaktivität, berechnet als HCB im Blut und in der Galle für Hund 1 und für Hund 2 während der Evasion an. Dabei sind die mit "x" bezeichneten Tage Behandlungstage mit je 100 ml Paraffin, 50 ml Paraffin und 50 ml Squalan.

Die Ausscheidung der r.a. in der Galle von Hund 2 konnte an ein 2-Kompartimentmodell angepaßt werden.

Für Hund 1 und Hund 2 wurden für die Galle folgende Konstanten errechnet, wobei sich auch die verschiedenen Halbwertszeiten ($HWZ = \frac{\ln 2}{k}$ in Tagen) berechnen lassen.

Galle

Hd	n	C_1	k	$\frac{\ln 2}{k}$	C_2	k	$\frac{\ln 2}{k}$	SS ¹
	(t)	(ppm)	(t ⁻¹)	(t)	(ppm)	(t ⁻¹)	(t)	
1	35	1087,0	0,1247	5,55	-	-	-	983684
2	64	736,3	0,0962	7,21	80.2	0,009784	70,8	659387

SS¹: Summe der Quadratabweichungen

Die zugehörigen Funktionen und ihre Anpassung an die Analysenwerte sind in den Abbildungen 22 und 23 graphisch dargestellt.

Die Konzentration der Radioaktivität, berechnet als HCB (ppb) im Blut während der Ausscheidungsphase zeigt eine schnelle Abnahme der Konzentration von 71,2 ppb bei Hund 1 bzw 41,1 ppb bei Hund 2 am Tag 1 der Evasion, auf 7,1 ppb bei Hund 1 am Tag 67 bzw 11,7 ppb bei Hund 2 am Tag 60 der Evasion.

Tabelle 5: Konzentration der Radioaktivität, berechnet als HCB (ppb) in Galle und im Blut während der Evasion. Hund 2 erhielt 6 Tage 100 ml Paraffin, 7 Tage 50 ml Paraffin und 5 Tage 50 ml Squalan täglich im Futter.

	Hund 1		Hund 2	
Tage	Galle	Blut	Galle	Blut
1	470,0	77,2	2292,0	41,4
2	293,0	n.a.	3845,0	n.a.
3	292,0	81,4	8685,0	41,2
4	715,0	n.a.	7304,0	n.a.
5	754,0	n.a.	3052,0	39,8
6	834,0	n.a.	4868,0	n.a.
7	575,0	44,5	2570,0	n.a.
8	429,0	n.a.	6803,0	n.a.
9	377,0	n.a.	5824,0	n.a.
10	500,0	n.a.	6717,0	n.a.
11	353,0	31,0	2724,0	n.a.
12	278,0	n.a.	2877,0	49,7
13	226,0	n.a.	4880,0	n.a.
14	203,0	n.a.	1743,0	n.a.
15	184,0	n.a.	977,0	n.a.
16	167,0	n.a.	892,0	n.a.
17	197,0	n.a.	989,0	n.a.
18	202,0	24,5	1041,0	n.a.
19	222,0	n.a.	1222,0	30,2
20	77,8	n.a.	747,0	n.a.
21	56,3	n.a.	966,0	n.a.
22	70,1	n.a.	1826,0	n.a.
23	135,0	n.a.	1105,0	n.a.
24	85,3	n.a.	1422,0	n.a.
25	55,2	16,1	1221,0	20,4

Tabelle 5: Fortsetzung

26	66,0	n.a.	1121,0	n.a.
27	19,2	n.a.	327,0	n.a.
28	9,7	n.a.	1510,0	n.a.
29 ^x	31,1	n.a.	814,0	25,2
30 ^x	45,0	n.a.	969,0	n.a.
31 ^x	10,5	12,8	1034,0	n.a.
32 ^x	30,1	n.a.	994,0	n.a.
33 ^x	8,5	n.a.	711,0	n.a.
34 ^x	9,3	n.a.	528,0	15,9
35	18,4	14,4	1900,0	n.a.
36	10,9	n.a.	603,0	n.a.
37	n.n.	n.a.	1379,0	n.a.
38	n.n.	n.a.	1357,0	n.a.
39	n.n.	n.a.	959,0	n.a.
40	n.n.	n.a.	1598,0	n.a.
41	n.n.	n.a.	1222,0	n.a.
42 ^x	n.n.	n.a.	1114,0	n.a.
43 ^x	n.n.	n.a.	753,0	n.a.
44 ^x	n.n.	n.a.	1724,0	n.a.
45 ^x	10,8	n.a.	421,0	n.a.
46 ^x	n.n.	n.a.	1577,0	n.a.
47 ^x	n.n.	n.a.	438,0	n.a.
48 ^x	17,3	n.a.	729,0	n.a.
49 ^x	n.n.	n.a.	471,0	n.a.
50	n.n.	n.a.	406,0	n.a.
51	n.n.	n.a.	302,0	n.a.
52	n.n.	4,8	428,0	n.a.
53	n.n.	n.a.	486,0	n.a.
54	25,3	n.a.	684,0	n.a.
55	9,5	n.a.	632,0	30,9

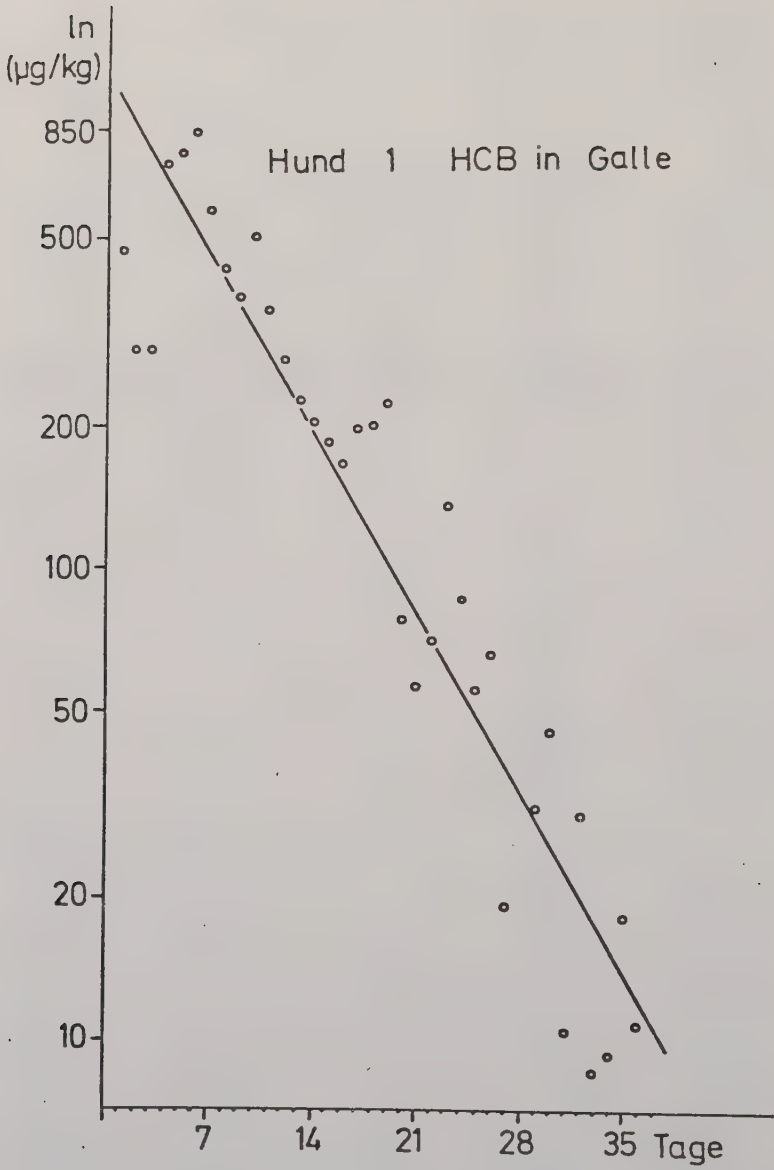
Tabelle 5: Fortsetzung

56	19,7	n.a.	635,0	n.a.
57	n.n.	n.a.	916,0	n.a.
58	n.n.	n.a.	1090,0	n.a.
59	n.n.	n.a.	563,0	n.a.
60	n.n.	n.a.	623,0	n.a.
61	n.n.	7,2	558,0	11,7
62	n.n.	n.a.	634,0	n.a.
63 ^x	n.n.	n.a.	659,0	n.a.
64 ^x	n.n.	n.a.	86,4	n.a.
65 ^x	n.n.	n.a.	160,0	n.a.
66 ^x	n.n.	n.a.	323,0	n.a.
67 ^x	n.n.	7,1	540,0	n.a.
68	9,7	n.a.	447,0	n.a.
69	4,7	n.a.	628,0	n.a.
70	n.n.	n.a.	492,0	n.a.
71			433,0	n.a.
72			716,0	n.a.
73			561,0	n.a.
74			590,0	n.a.
75			502,0	n.a.
76				n.a.
77			404,0	n.a.
78				n.a.
79			353,0	n.a.
80				n.a.
81			290,0	n.a.
82				n.a.
83			278,0	n.a.
84				n.a.
85			599,0	n.a.

Tabelle 5: Fortsetzung

86		n.a.
87		n.a.
88	370,0	n.a.
89		n.a.
90		n.a.
91	399,0	n.a.

n.n.: nicht nachweisbar. n.n.: nicht analysiert; T^x: Behandlungstag



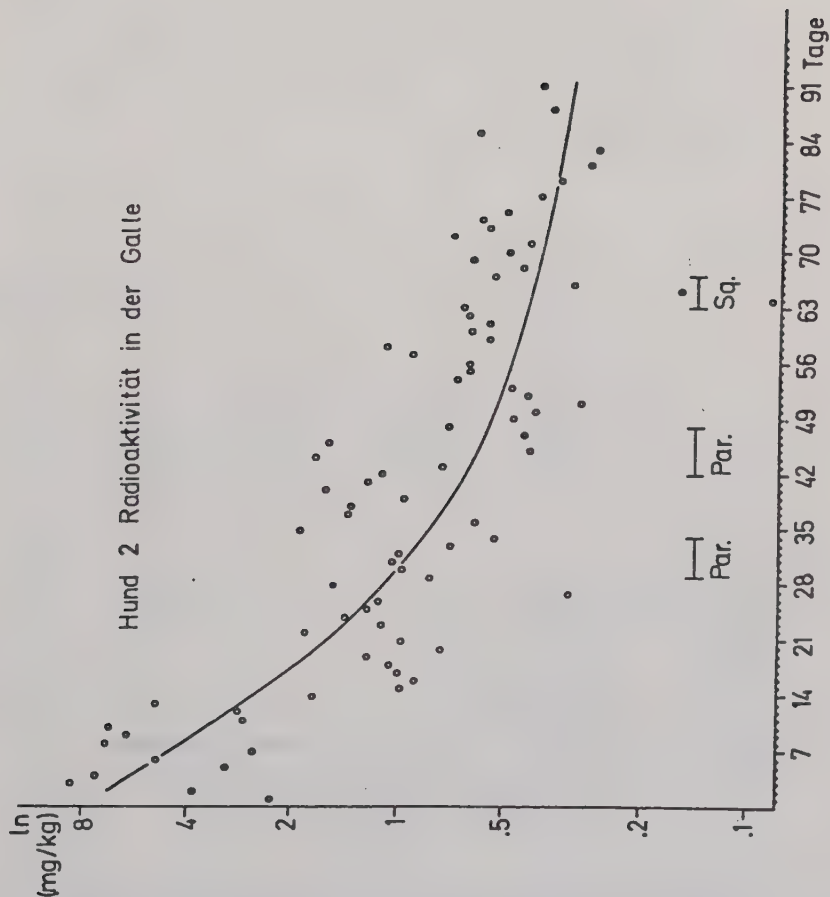


Abbildung 23: Konzentration der r.a. in der Galle, berechnet als HCB, während der Exsorption bei Hund 2. Während den gekennzeichneten Perioden erhielt der Hund 100 bzw 50 ml Paraffin oder 50 ml Squalan im Futter. (halblog. Darstellung)

2. Faeces und Urin

Tabelle 6 gibt die Konzentration der r.a., berechnet als HCB in den Faeces und im Urin für Hund 1 und für Hund 2 während der Evasion an.

Für Urin von Hund 1 und Faeces von Hund 2 konnte über ein 2-Kompartimentmodell eine bessere Anpassung erreicht werden.

Es ergaben sich folgende Konstanten mit den dazugehörigen Halbwertszeiten:

	Urin		Faeces	
	Hd 1	Hd 2	Hd 1	Hd2(ohne Behandlung)
n (t)	33	82	28	53
C ₁ (µg)	474,2	133,6	396,4	112,1
k ₁ (t ⁻¹)	0,2255	0,01834	0,1411	0,1316
$\frac{\ln 2}{k_1}$ (t)	3,07	37,8	4,9	5,27
C ₂ (µg)	179,1	-	-	206,8
k ₂ (t ⁻¹)	0,0326	-	-	0,0252
$\frac{\ln 2}{k_1}$ (t)	21,3	-	-	27,5
SS ¹	36926	47846	71880	148606

SS¹: Summe der Quadratabweichungen

Die zugehörigen Funktionen und ihre Anpassung an die Analysenwerte sind in den Abbildungen 24, 25 und 26 graphisch dargestellt. Bei Hund 2 wurden gegen Ende des Versuches Sammelproben von zwei bis vier Tagen untersucht. Für die graphische Darstellung (Abbildung 25 und 26) wurden

die gemittelten Ausscheidungsmengen pro Tag zum mittleren Zeitpunkt der Sammelperiode verwendet. Die prozentuale Verteilung der Konzentration der Radioaktivität an der Gesamtausscheidung zwischen Faeces und Urin ergibt bei Hund 1, daß mit den Faeces 24,8 % und mit dem Urin 74,4 % ausgeschieden wurden. Für Hund 2 ergibt sich dagegen eine höhere Ausscheidung in den Faeces mit 54,9 % gegenüber dem Urin mit 45,1 %. Für Hund 2 wurden weiterhin die prozentualen Anteile an der Gesamtausscheidung unter Einfluß der verschiedenen Behandlungen errechnet. Danach erhöhte sich der Anteil der r.a. in den Faeces während den beiden Paraffinbehandlungszeiten (100 ml bzw 50 ml Paraffin) auf 71,2 bzw auf 67,6 %.

Vergleicht man die während den Behandlungsperioden tatsächlich mit den Faeces ausgeschiedenen HCB-Mengen mit den ohne diese Werte berechneten theoretischen Mengen aus dem 2-Kompartimentmodell, so ergibt sich eine Zunahme der Ausscheidung, die sich folgendermaßen verteilt:

Für die Tage	30 - 37	(100 ml Paraffin/Tag)	
	theoretisch 724 ,ug,	tatsächlich 1367 ,ug	(189 %)
Für die Tage	43 - 49	(50 ml Paraffin/Tag)	
	theoretisch 457 ,ug,	tatsächlich 771 ,ug	(169 %)
Für die Tage	64 - 69	(50 ml Squalan/Tag)	
	theoretisch 233 ,ug,	tatsächlich 283 ,ug	(122 %)

Tabelle 6: Ausscheidung von Radioaktivität, berechnet als HCB (μg) in den Faeces und im Urin während der Evasion. Hund 2 erhielt 6 Tage 100 ml Paraffin, 7 Tage 50 ml Paraffin und 5 Tage 50 ml Squalan täglich im Futter

Tage	Hund 1		Hund 2	
	Faeces	Urin	Faeces	Urin
1	-	498,0	799,0	142,0
2	522,0	517,0	275,0	133,0
3	-	445,0	306,0	188,0
4	231,6	370,0	141,0	154,0
5	173,0	291,0	362,0	130,0
6	142,0	227,0	254,0	125,0
7	147,0	264,0	150,0	119,0
8	231,0	242,0	218,0	88,8
9	116,0	186,0	140,0	118,0
10	125,0	118,0	208,0	120,0
11	161,0	128,0	220,0	110,0
12	46,3	164,0	101,0	172,0
13	81,6	146,0	216,0	161,0
14	64,2	115,0	241,0	190,0
15	41,7	110,0	99,2	101,0
16	66,1	132,0	176,0	103,0
17	20,6	128,0	183,0	74,9
18	49,6	107,0	148,0	82,1
19	18,7	92,8	155,0	95,4
20	25,2	117,0	104,0	100,0
21	7,0	83,9	120,0	84,0
22	16,9	159,0	161,0	82,8
23	25,7	85,8	-	92,4
24	33,8	82,9	151,0	132,0
25	22,4	85,7	156,0	77,1

Tabelle 6: Fortsetzung

26	7,5	87,1	-	61,0
27	8,9	65,1	98,0	69,4
28	12,8	151,0	120,0	107,0
29 ^x	-	82,7	85,0	72,7
30 ^x	3,4	94,4	-	101,0
31 ^x	-	63,4	288,3	112,0
32 ^x	-	68,4	133,0	54,0
33 ^x	1,7	32,5	343,0	51,1
34 ^x	n.a.	n.a.	265,0	62,7
35	n.a.	n.a.	-	32,0
36	n.a.	n.a.	167,8	91,9
37	n.a.	n.a.	170,0	61,7
38	n.a.	n.a.	53,9	31,3
39	n.a.	n.a.	60,2	69,2
40	n.a.	n.a.	127,0	46,1
41	8,9	n.a.	50,4	46,9
42 ^x	6,2	42,1	70,9	50,7
43 ^x	-	43,0	175,0	50,9
44 ^x	3,6	45,1	-	14,3
45 ^x	3,2	37,0	152,6	104,0
46 ^x	1,7	54,2	69,4	44,7
47 ^x	5,7	38,7	134,5	65,2
48 ^x	4,2	38,2	95,3	44,0
49 ^x	6,9	34,8	144,5	48,6
50	2,1	39,7	-	53,6
51	3,0	22,0	81,2	94,9
52	3,1	41,1	-	58,2
53	3,1	27,5	118,9	48,3
54	11,3	37,5	48,4	60,9
55	2,8	26,6	41,4	38,4

Tabelle 6: Fortsetzung

56	2,8	27,0	55,4	42,4
57	5,2	32,8	49,3	40,4
58	2,4	73,3	34,6	26,7
59	4,1	21,5	-	65,7
60	-	21,1	74,2	121,0
61	5,1	14,2	42,5	45,0
62	3,1	22,2	38,0	31,5
63 ^x	3,1	13,8	30,1	37,2
64 ^x	0,5	14,6	-	88,6
65 ^x	1,2	10,9	76,4	62,2
66 ^x	2,7	18,1	-	50,1
67 ^x	2,6	23,2	91,4	43,3
68	1,4	11,4	65,7	37,8
69	1,7	9,8	49,1	31,8
70	2,3	13,1	35,8	37,9
71	n.n.	5,3	72,9	27,1
72	n.n.	4,8	-	49,8
73	n.n.	8,0	42,9	38,8
74	0,5	5,9	29,8	23,2
75	n.n.	9,4	31,2	38,2
76	1,9	n.n.		
77	n.n.	8,5	69,2	47,7
78	n.n.	n.n.		
79	n.n.	4,1	49,6	58,6
80	n.n.	4,1		
81	n.n.	4,5	41,8	48,5
82	n.n.	2,7		
83			64,5	56,3
84				
85			-	60,0

Tabelle 6: Fortsetzung

86		
87		
88	111,7	126,4
89		
90		
91	68,0	148,0

n.n. nicht nachweisbar; n.a. nicht analysiert; -: keine Faeces;

T^x: Behandlungstag

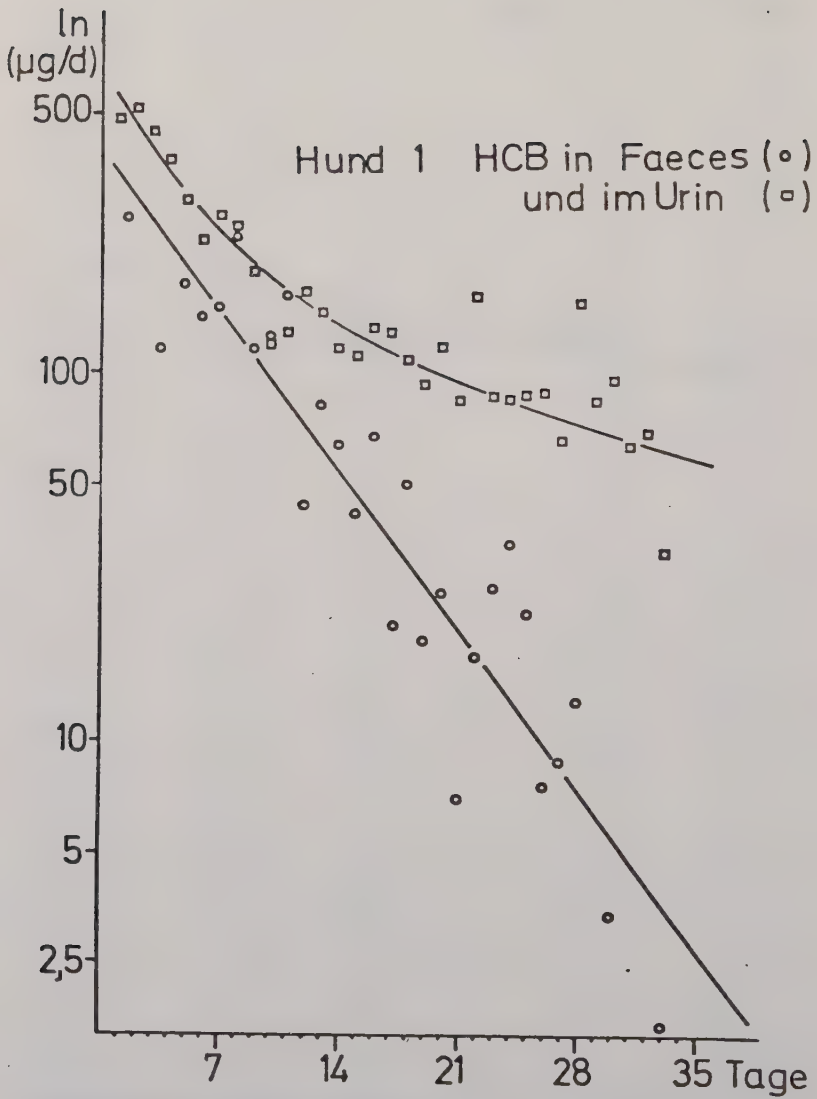


Abbildung 24: Tägliche Ausscheidung von r.a. im Urin und in den Faeces, berechnet als HCB, während der Evasion bei Hund 1 (halblog. Darstellung)

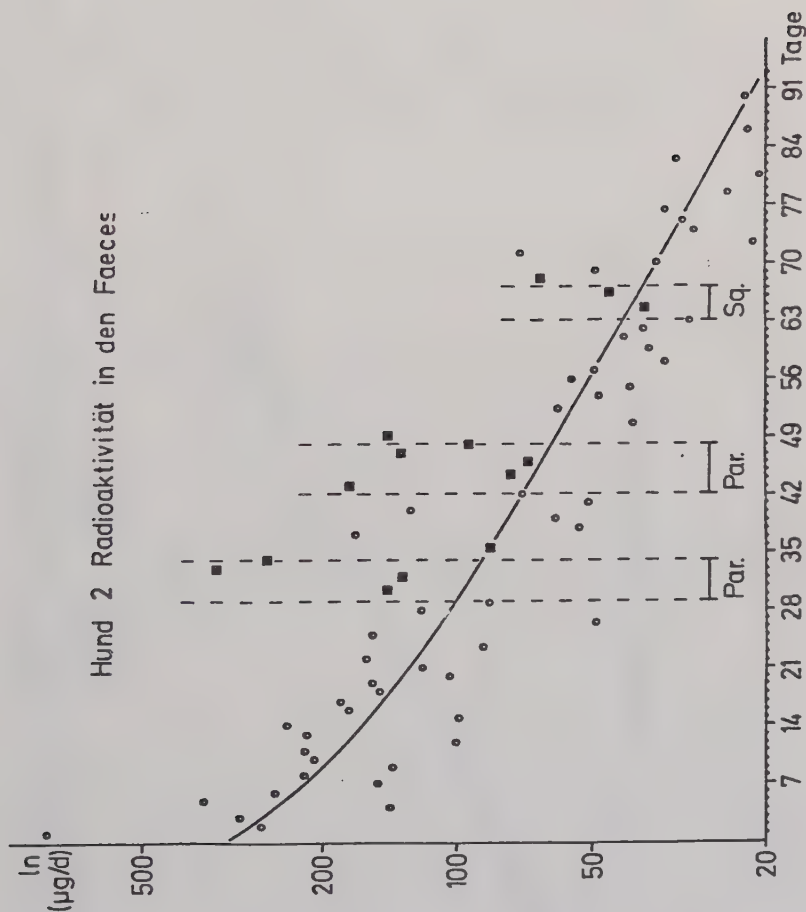


Abbildung 25: Tägliche Ausscheidung von r.a. in den Faeces, berechnet als HCB, während der Evasion bei Hund 2. Während den gekennzeichneten Perioden (durch Quadrate gekennzeichnete Werte) erhielt der Hund 100 bzw 50 ml Paraffin oder 50 ml Squalan im Futter. (halblog. Darstellung)

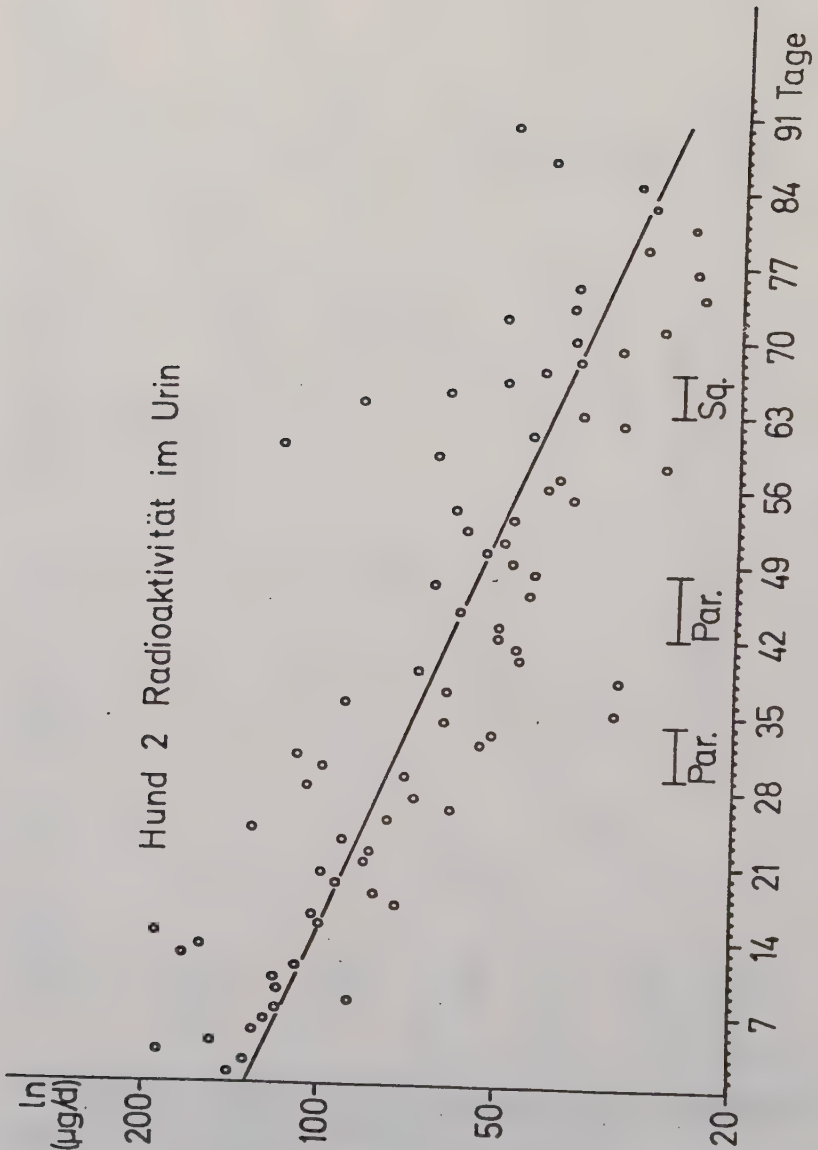


Abbildung 26: Tägliche Ausscheidung von r.a. im Urin, berechnet als HCB, während der Evason bei Hund 2. Während den gekennzeichneten Perioden erhielt der Hund 100 bzw 50 ml Paraffin oder 50 ml Squalen im Futter.
(halblog. Darstellung)

IV. HCB-Gehalt im Fett und in der Leber

Hund 2 wurde am 184. Versuchstag eingeschläfert und die Leber und das Fett auf ihren HCB-Gehalt hin untersucht. Dabei ergab sich im subcutanen Fettgewebe ein Wert von 723 ppb und im abdominalen Fettgewebe 822 ppb; in der Leber wurde ein Wert von 90 ppb ermittelt. Diese Werte führen zu dem Ergebnis, daß im Fett der 8,6-fache Gehalt an Hexachlorbenzol im Vergleich zum Gehalt in der Leber vorliegt.

V. Anteil von Hexachlorbenzol an der Radioaktivität in der Galle und in den Faeces

Auf Hexachlorbenzol entfällt nur ein geringer Anteil an der Radioaktivität, der während der Evasion in der Galle stets niedriger ist als in den Faeces.

Bei Hund 1 beträgt der Prozentsatz von HCB in der Galle an jeweils acht Tagen der Invasion und der Evasion $0,9 \pm 0,3$ % bzw $2,1 \pm 0,9$ %.

Der Anteil von Hexachlorbenzol in den Faeces wurde bei Hund 1 nur während der Evasion an fünf Tagen bestimmt. Er ist mit $4,54 \pm 2,17$ höher als in der Galle.

Tabelle 7: Prozentualer Anteil von HCB an der Gesamt-radioaktivität in Galle und Faeces während der Evasion

Hund 2

Behandlung	n	%-Anteil in Galle %-Anteil in Faeces
keine	22	2,5±1,2
	17	6,7±3,3
100 ml Paraffin	6	2,2±1,3
	5	53,0±15,7
50 ml Paraffin	6	1,6±0,7
	6	28,8±10,2
50 ml Squalan	4	4,4±2,9
		45,9±11,5

Auch bei Hund 2 ist der Prozentsatz von HCB in der Galle während der Invasion ($1,6 \pm 0,6$, $n=10$) signifikant niedriger als in der Evasion ($2,5 \pm 1,2$, $n=22$; $t=2,173$, $p<0,05$). Die HCB-Anteile in Galle und in Faeces während der Evasion zeigen Tabelle 7. Die Unterschiede zwischen Galle und Faeces sind zu jedem Zeitpunkt hochsignifikant ($p<0,001$). Während der Therapie erhöhte sich der HCB-Anteil in den Faeces um das 5-10 fache.

Die statistische Bewertung der Durchschnittswerte erfolgte mit Hilfe des zweiseitigen t-Tests (Studentverteilung).

VI. Metaboliten von Hexachlorbenzol in Gallenproben

Bei Hund 1 und bei Hund 2 wurden Gallenproben auf mögliche Metaboliten des Hexachlorbenzols hin untersucht und folgende Verteilung gefunden (Tabellen 8 und 9 und Abbildung 27).

Die Summe der gaschromatographisch gemessenen Metaboliten, einschließlich des unveränderten HCB-s, betrug im Hexanextrakt der Galle nach alkalischer Hydrolyse etwa $1/4$ bis $1/3$ der Gesamtradioaktivität. Dabei entfällt mit 60 bis 70 % der weitaus höchste Anteil auf Pentachlorthiophenol.

Tabelle 8: Prozentualer Anteil der HCB-Metaboliten im Hexan-extrahierbaren Anteil (H.A.) der Gesamtradioaktivität in der Galle von Hund 1 nach alkalischer Hydrolyse

Tag	H.A. %	TeCph %	HCB %	PCPh %	PCtPh %	TCDtPh %
5	32,82	n.n.	4,39	13,75	71,53	10,32 Invasion
8	23,97	n.n.	3,54	12,92	72,30	11,24
12	18,51	0,42	3,96	17,21	68,88	9,53
16	19,74	0,29	3,59	17,49	77,24	1,30
20	28,70	n.n.	4,75	20,29	65,60	9,36
24	12,11	n.n.	4,32	12,56	70,59	12,53
28	17,53	n.n.	6,77	16,15	77,08	n.n.
32	36,29	n.n.	4,75	19,86	65,75	9,62 Evasion
$\bar{x}$	23,71	0,36	4,51	16,28	71,25	9,13
$s_{\bar{x}}$	8,30	0,09	1,03	2,99	4,31	3,63
n	8	2	8	8	8	7

$\bar{x}$: arithmetischer Mittelwert, $s_{\bar{x}}$: Standardabweichung von $\bar{x}$, n: Analysenwerte, n.n.: nicht nachweisbar.

Tabelle 9: Prozentualer Anteil der HCB-Metaboliten im Hexan-extrahierbaren Anteil (H.A.) der Gesamtradioaktivität in der Galle von Hund 2 nach alkalischer Hydrolyse

Tag	H.A. %	TeCPh %	HCB %	PCPh%	PCtPh %	TCDtPh %
6	41,67	0,63	3,87	40,83	47,33	7,31 Invasion
8	49,50	0,96	3,25	44,35	44,68	6,76
10	38,39	0,44	5,50	30,05	55,56	8,42
12	39,90	0,38	5,94	23,49	59,97	10,20
17	18,49	0,28	5,13	17,68	65,88	10,99
24	41,44	n.n.	5,40	13,25	68,88	11,78
25	23,57	0,47	6,53	26,72	65,03	1,23
38	20,37	n.n.	8,20	17,04	62,69	12,05 Evasion
45	41,97	0,47	5,27	27,16	53,67	13,40
50	48,40	0,88	5,42	48,20	44,69	0,79
66	24,27	n.n.	5,50	20,87	69,71	3,98
67	30,13	n.n.	10,95	22,39	58,85	7,79
68	34,10	n.n.	4,10	19,62	67,31	8,95
69	34,45	n.n.	2,92	22,31	37,26	7,49

Tabelle 9: Fortsetzung

Tag	H.A. %	TeCPH %	HCB %	PCPh %	PCTPh %	TCDFPh %
70	27,91	n.n.	6,95	26,88	56,46	9,69 Evasion
72	32,91	n.n.	5,16	19,57	65,42	9,83
73 ^P 50	24,66	n.n.	4,55	19,16	62,95	8,77
75 ^P 50	21,84	n.n.	3,95	13,05	73,69	9,28
77 ^P 50	26,67	n.n.	3,78	14,47	80,71	1,02

104

$\bar{x}$: arithmetischer Mittelwert, s_x : Standardabweichung von $\bar{x}$, n: Analysenwerte, n.n.: nicht nachweisbar,
^TP 50: 50 ml Paraffin/Tag.

Abbildung 27:

Gaschromatogramm eines Hexanextraktes (Einspritzvolumen 2 μ l) der Gallenflüssigkeit von Hund 2 am Versuchstag 10.

Peak-Nr.	RT (sek)	RRT _{HCB}	authentische Substanzen, deren GC-Retentionszeit (RT) mit der gefundenen RT überein- stimmen.
4	154	0.69	2,3,5,6-Tetrachlorphenol
6	222	1.00	Hexachlorbenzol
7	264	1.18	Pentachlorphenol
9	478	2.15	Pentachlorthiophenol
10	1080	4.86	2,3,5,6-Tetrachlordithiophenol

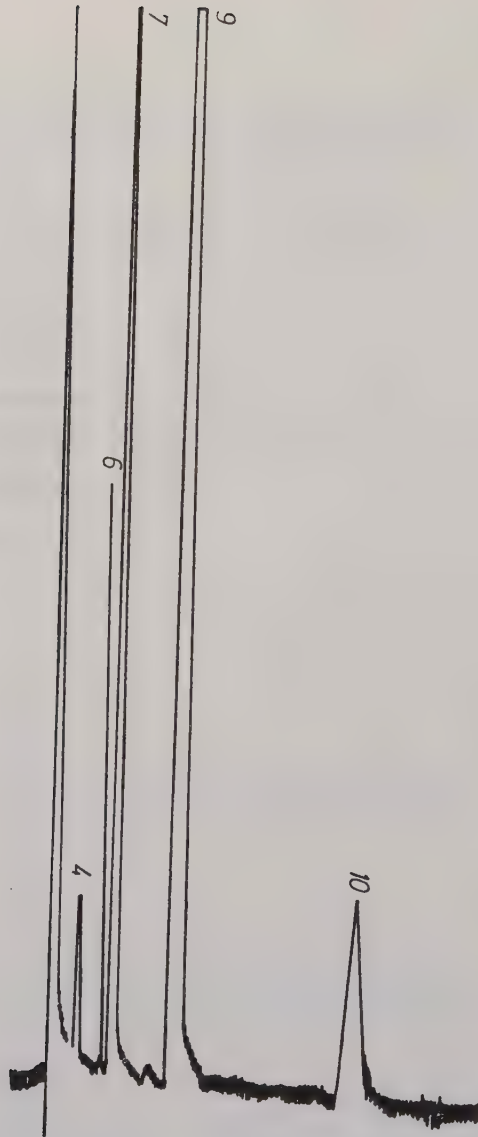


Abbildung 27

D) D i s k u s s i o n

Bei der Untersuchung der Pharmakokinetik von HCB wurde besonderer Wert auf die Bestimmung der biliären Ausscheidung gelegt.

Für die Gewinnung von Galle bei Hunden über einen längeren Zeitraum wurde zunächst eine Methode zur Dauerkanülierung des Gallenganges entwickelt. Die wichtigsten Kriterien die erfüllt werden sollten waren:

1. eine möglichst einfache Operation;
2. eine geringe Nachsorge des operierten Tieres;
3. die Möglichkeit Galle unter sterilen Bedingungen durch nur eine Person am wachen Tier abzuziehen;
4. eine weitgehend erhaltene Physiologie mit Gallenblase und ungestörter Funktion der Papille.

Die häufig verwandte "Thomaskanüle", eine Duodenalfistel, deren Öffnung gegenüber der Papille liegt, genügt den oben genannten Anforderungen nicht und schied bei den weiteren Überlegungen aus (164).

Durch Einsetzen von zwei getrennten Kathetern in den Ductus choledochus, einem Abführenden und einem Zuführenden, die außerhalb der Haut miteinander verbunden werden konnten, konnte die Physiologie der Gallensekretion weitgehend erhalten werden. Dies wurde von Lefaivre et al (165) für das Kalb und von Sambrook (166) für das Schwein nachgewiesen. Anders als bei diesen Tieren muß die Verbindung der Katheter außerhalb der Haut bei Hunden besonders vor der Beschädigung durch Beißen und Kratzen geschützt werden. Dinstl et al (167) erreichten dies durch Deponierung in einer in die Bauchdecke implantierten Thomaskanüle.

Schlepper et al (168) versuchten diesem Rechnung zu tragen, indem sie die Katheter oberhalb der Schulter am Hals des Tieres herausführten.

In Anlehnung an diese Methode wurde in den folgendem Versuch die Dauerkanülierung durchgeführt. Besonderer Wert wurde auf die Art des Kathetermaterials und die Art der Verbindung des zuführenden und abführenden Katheters gelegt. Die Katheter müssen im wesentlichen drei Anforderungen genügen. Sie müssen eine genügend gute Elastizität besitzen, um das Tier nicht in seiner Bewegungsfreiheit zu beeinträchtigen. Die Elastizität darf auch nicht durch allmähliches Aushärten verloren gehen. Andererseits müssen die Katheter genügend Festigkeit besitzen, damit das Lumen nicht durch Abknicken oder Druck verschlossen wird. Schließlich sollten sich in den Kathetern möglichst keine Gallenbestandteile niederschlagen und durch Inkrustieren allmählich das Lumen verengen. Polyurethankatheter der Fa. Rüsch erfüllten alle diese Anforderungen. Es kam zu keiner Affektion des umgebenden Gewebes und nach einem halben Jahr war weder ein Elastizitätsverlust, noch eine Veränderung des Katheterlumens zu beobachten.

Die Katheter wurden mit Hilfe eines für diesen Versuch hergestellten Verbindungsstück aus Teflon verbunden. Zum Schutz vor Beschädigung erwies es sich als notwendig das Verbindungsstück in einem Ledertäschchen mit Reißverschluß unterzubringen. Besondere Aufmerksamkeit muß der Verhütung einer Infektion und möglichen Verstopfung der Katheter gelten. Dies wird durch Einhaltung steriler Bedingungen (Einmalmaterial etc.) und regelmäßigem Spülen des abführenden Katheters gewährleistet.

Die Erfahrungen des vorliegenden Versuches zeigen, daß diese Probleme mit der entwickelten Methode prinzipiell gut lösbar sind. Es wäre allerdings notwendig an einer größeren Tierzahl Erfahrungen zu sammeln, bzw. zu verwerten. Dies war aus Kostengründen nicht möglich, zumal die zentrale Fragestellung des Versuches die Bedeutung der biliären Elimination von HCB war.

Die im Rahmen der klinischen Blutuntersuchungen gefundenen Anstiege der Werte sind mit größter Wahrscheinlichkeit nicht Ausdruck der HCB-Belastung. Gralla et al (71) fanden selbst bei einer doppelt so hohen täglichen HCB-Belastung über einen Zeitraum von einem Jahr keine Veränderung der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase im Serum. Die Veränderungen im vorliegenden Versuch beruhen wohl in erster Linie auf einem Gallestau und/oder einer Infektion der Gallenwege.

Über den Stoffwechsel von HCB beim Hund ist bisher nur wenig berichtet worden. Nach Sundlof et al (150) wird unverändertes HCB von männlichen Beaglehunden hauptsächlich über die Faeces eliminiert und zwar als Ergebnis einer biliären Ausscheidung. Es finden sich keinerlei Angaben über die Resorption und den Metabolismus von HCB. Im vorliegenden Experiment resorbierten die Hund etwa die Hälfte des oral zugeführten HCBs. Diese im Vergleich zu Fütterungsversuchen an Ratten und Affen niedrige Resorptionsrate ist darauf zurückzuführen, daß das HCB nicht in Öl gelöst war und die Hunde während der Invasion eine fettarme Kost erhielten. Bereits während der Letzten Woche der Invasion kam es bei Hund 1 zu einer massiven Störung des Allgemeinbefindens durch einen ausgeprägten Gallestau. Dies wirkt sich auch auf die Aus-

scheidung von Radioaktivität in Galle und Urin aus. Während sich die HCB-Konzentration in der Galle um ein Mehrfaches erniedrigt, erhöht sich die Ausscheidung im Urin entsprechend (Abb.16 und 20). Bei Hund 2 wird weder in der Galle noch im Urin auch nur annähernd ein Plateau erreicht (Abb.17 und 21).

Bei Rhesusaffen wurde selbst nach eineinhalbjähriger Fütterung mit 1 ppm¹⁴C-HCB weder im Fettgewebe noch in der Ausscheidung von Radioaktivität mit dem Urin ein Plateau erreicht. Die Konzentration der Radioaktivität ist in der ersten Woche in der Galle etwa 10mal höher als im Blut (Abb.18 und 19) und erreicht bei Hund 2 im Laufe der Invasion durchschnittlich 100mal höhere Werte.

Während der Evasion erkrankte Hund 1 nach vorübergehender Besserung erneut. Wiederum war ein gestörter Galleabfluß gegeben, der die Ausscheidungskinetik erheblich beeinflusste. Dadurch fiel die Konzentration der Radioaktivität in der Galle (Abb.22, Tab.5) bzw. die tägliche Ausscheidungsmenge in den Faeces (Abb.24, Tab.6) mit einer Halbwertszeit von ca. 5 Tagen erheblich rascher ab, als die Ausscheidungsmenge im Urin (Abb.24, Tab.6) mit einer Halbwertszeit von 20 Tagen. Zu Beginn der Evasion schied Hund 1 noch etwa gleich große Mengen Radioaktivität im Urin und in den Faeces aus, in der 3. und 4. Woche dagegen fast 10mal mehr im Urin als in den Faeces. Aus diesen Gründen wurde bei Hund 1 auch kein Therapieversuch durchgeführt.

Bei Hund 2 waren in den ersten drei Monaten der Evasion keine Anzeichen einer Störung des Allgemeinbefindens oder eines Gallestaus gegeben. Er schied an den meisten Tagen höhere Radioaktivitätsmengen in den Faeces als im Urin aus (Tab.6). Der durchschnittliche

Anteil des Urins an der Gesamtausscheidung ist mit 45% aber wesentlich höher als bei vergleichbaren Untersuchungen an Ratten und Affen (ca. 10%). Nachdem im Urin kein unverändertes HCB, sondern nur Metaboliten ausgeschieden werden, spricht dies für eine hohe Metabolisierungsrate. Dies wird noch durch den hohen Anteil von Metaboliten in den Faeces unterstrichen, denn nur ca. 6% der Gesamtradioaktivität entfiel hier auf unverändertes HCB (Tab.7). Bei Affen machte HCB dagegen 99%, bei Ratten ca. 70% der Gesamtausscheidung in den Faeces aus. Der rasche Abbau von HCB spiegelt sich bei Hund 2 auch in den mit 30 bzw. 40 Tagen kurzen Halbwertszeiten für Urin und Faeces wieder.

Bei Ratten beträgt die Halbwertszeit von HCB ca. 5 Monate, bei Affen mindestens einige Jahre. Der HCB-Anteil an der Gesamtradioaktivität in der Galle ist mit 2,5% noch signifikant niedriger als der in den Faeces (Tab. 7). Wollte man die mit den Faeces ausgeschiedenen HCB-Mengen allein mit den biliär ausgeschiedenen HCB-Mengen erklären, so müßte der Hund in der Regel mehr als 200 ml Galle pro Tag sezernieren. Ein derart hoher Gallefluß wird aber nur für große Hunde angegeben (169). Diese Überlegung setzt außerdem noch voraus, daß biliär ausgeschiedenes HCB keiner Rückresorption unterliegen sollte. Nachdem dies nicht wahrscheinlich ist, muß es für HCB neben dem biliären Ausscheidungsweg noch eine transepitheliale Ausscheidung im Darm geben. Damit erklärt sich auch der erhöhte HCB-Anteil an der Gesamtradioaktivität in den Faeces im Vergleich zur Galle. Die Ergebnisse der Paraffin- und Squalanbehandlung unterstützen diese Hypothese. Während der Therapie steigt die Ausscheidung von unverändertem HCB mit den Faeces um das 8-15fache an, die Konzentration von HCB in der Galle ändert sich

dagegen nicht (Tab.7). Nachdem sich der ausscheidungs-
fördernde Effekt im wesentlichen auf unverändertes HCB
beschränkt, ist der unter Behandlung relativ geringe
Anstieg der insgesamt ausgeschiedenen Radioaktivität
mit den Faeces um das 1,2 bis 1,9fache erklärbar.
Bei Ratten und Affen, bei denen wesentlich höhere
Anteile der Gesamtradioaktivität in den Faeces auf
HCB entfallen, wirkte sich der Paraffineffekt mit
einer 3 bis 6fachen Steigerung viel stärker auf die
Gesamtausscheidung aus.

E) Z u s a m m e n f a s s u n g

Die vorliegende Arbeit berichtet über den Stoffwechsel von Hexachlorbenzol (HCB) bei Beaglehunden und dessen Beeinflussung durch orale Paraffingaben. Dabei wurde besonderer Wert auf die Bestimmung der HCB-Ausscheidung mit der Galle gelegt.

Zu diesem Zweck wurden fünf weibliche Beaglehunde mit permanenten Gallengangskathetern versehen. Klinische Blutuntersuchungen, insbesondere der "cholestase" anzeigenden Enzyme, wurden regelmäßig durchgeführt.

Zwei Hunde wurden in Stoffwechselkäfigen gehalten und erhielten 30 Tage lang täglich oral 0,5 mg/kg Körpergewicht ^{14}C -HCB (Invasion). Danach wurde die Ausscheidung 70 bzw. 91 Tage lang verfolgt (Evasion).

Ein Hund erhielt während der Evasion 6 bzw. 7 Tage lang 100 bzw. 50 ml/Tag dünnflüssiges Paraffin und 5 Tage lang 50 ml/Tag Squalan. Blut, Galle, Urin und Faeces wurden während dem gesamten Versuch auf Radioaktivität (r.a.) untersucht. In Galle und Faeces wurde der HCB-Gehalt, in der Galle wurde zusätzlich die nach alkalischer Hydrolyse extrahierten Metaboliten gaschromatographisch bestimmt.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Während der Invasion wurden etwa 2/3 der zugeführten r.a. hauptsächlich über die Faeces ausgeschieden.
2. Während der Evasion wurde im Urin mit 74 % und 43 % ein unerwartet hoher Anteil der gesamt ausgeschiedenen r.a. gefunden.
3. Der Anteil von nicht metabolisiertem HCB ist in der Galle mit ca. 2,5 % der Gesamtradioaktivität signifikant niedriger als in den Faeces (ca. 6 %).

4. Während der Behandlung mit Paraffin oder Squalan erhöhte sich die Ausscheidung von Radioaktivität in den Faeces, wobei der Anteil von unverändertem HCB an der Gesamtradioaktivität auf 30 % bis 50 % anstieg. Die Ausscheidung von Radioaktivität in Galle und Urin blieb dagegen unbeeinflusst.
5. Die geringen Mengen von unverändertem HCB in der Galle von unbehandelten Hunden reichen nicht aus, um die in den Faeces gefundenen Mengen zu erklären. Es muß deshalb eine transepitheliale Ausscheidung von HCB im Darm erfolgen, die sich durch orale Paraffin- oder Squalangaben auch 4 bis 9 Wochen nach der HCB-Aufnahme erheblich steigern läßt

Summary

The pharmacokinetic of hexachlorobenzene (HCB) was studied in paraffin-treated Beagle dogs with re-entrant bile duct catheter. Five female Beagle dogs were supplied with bile duct catheters. Values of serum enzymes were checked routinely. Two dogs were housed in metabolism cages and orally given 0,5 mg/kg ^{14}C -HCB daily for 30 days. Elimination of HCB was determined for 70 and 91 days. One dog was fed light liquid paraffin for two periods of 6 (100 ml/d) and 7 days (50 ml/d) during the second month of HCB elimination and 50 ml/d of squalane for 5 days during the third month. Samples of blood, bile, urine and feces were analysed for radioactivity (r.a.) during the whole study. Samples of bile and feces were analysed by g.l.c. for HCB. Additionally, samples of bile were subjected to alkaline hydrolysis and metabolites determined in the hexane extracts by g.l.c. The following results were obtained:

1. During HCB uptake approximately 2/3 of the r.a. given was excreted mainly with feces.

2. An unexpected high percentage of r.a. was excreted with urine (43 and 74%) during the elimination phase.
3. The percentage of unmetabolized HCB of total r.a. was significantly lower in bile (2,5%), than in feces (6%).
4. Treatment with paraffin and squalane enhanced the fecal excretion of r.a. The percentage of HCB in feces increased considerably with all three treatments to approximately 30 to 50 percent. There was no change in total excretion of r.a. with urine as well as in concentration of r.a. and HCB in bile during therapy.
5. The small amounts of HCB present in bile cannot account for the amounts of HCB excreted with feces in the untreated dog. An enteric excretion of HCB must therefore take place. Feeding light liquid paraffin or squalane increases the enteric excretion of unmetabolized HCB considerably even 4-9 weeks after the uptake of the poison.

F) Literaturverzeichnis

- 1 Neumüller, O.A. Hexachlorbenzol
in Römpps Chemie-Lexikon
Band III, 7.Auflage, 1463,
Stuttgart: Franckh'sche Ver-
lagsbuchhandlung, 1973
- 2 Perkow, W. Fungizide: Hexachlorbenzol
in: Wirksubstanz der
Pflanzenschutz- und Schäd-
lingsbekämpfungsmittel
Berlin: Verlag Paul Parey, 1971
- 3 Hollemann-Wiberg Lehrbuch der anorganischen
Chemie 71.-80., völlig umge-
arbeitete und stark erweiter-
te Auflage
Berlin: Verlag Walter de
Gruyter & Co. 1971
- 4 Koenemann, H. und K.
 van Leeuwen Toxicokinetics in fish:
Accumulation and elimination
of six Chlorobenzenes by
guppies
Chemosphere 9 (1):3-19, 1980
- 5 Klimmer, O.R. Hexachlorbenzol
in: Pflanzenschutz- und
Schädlingsbekämpfungsmittel
Abriß einer Toxikologie und
Therapie von Vergiftungen, 54
Hattingen, Hundt-Verlag, 1971

- 6 Mehendale, H.M.,
M. Fields und
H.B. Matthews
Metabolism and effects of
hexachlorobenzene on hepatic
microsomal enzymes in the rat
J.Agr.Food Chem. 23, 261, 1975
- 7 Avrahami , M. and
I.L. Gernert
HCB antagonism to dieldrin
storage in adipose tissue
of female rats
NZ J.Agric.Res. 15, 783, 1972
- 8 Clauss, B. und
L. Acker
Zur Kontamination von Milch
und Milcherzeugnissen mit
chlorierten Kohlenwasserstoffen
im westfälischen Raum
I. Methodik
Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 159,
79, 1975
- 9 Wirth, W.,G. Hecht,
C. Gloxhuber
Hexachlorbenzol
in: Toxikologie-Fibel, 236
Stuttgart: Georg Thieme Verlag
1971
- 10 Strasburger, E.
Lehrbuch der Botanik für
Hochschulen 29.Auflage
Stuttgart: Gustav Fischer Verlag
1967
- 11 Leoni, V. und
S.U. D'Arca
Experimental data and critical
review of the occurrence
of hexachlorobenzene in the
italian environment
Sci.Total Environ.5, 253, 1976

- 12 Schlör, H. Hexachlorbenzol
in Chemie der Pflanzenschutz-
und Schädlingsbekämpfungsmittel
Hrsg.: R.Wegler
Band II, 1.Auflage, 73
Heidelberg: Springer Verlag
1970
- 13 Zimmerli, B. und B. Marek Entwicklung einer gaschroma-
tographischen Bestimmungs-
und Bestätigungsmethode für
Hexachlorbenzolrückstände
in Fetten und Ölen
Mitt.Geb.Lebensmittelunters.Hyg.
63, 273, 1972
- 14 Knöppler, H.O., Untersuchung von Schlacht-
H.J. Donnerbauer und schweinen auf Pestizid- und
A. Philipp Arsenrückstände
Die Fleischwirtschaft 55, 1460,
1975
- 15 Quinlivan, S.C., Sources, characteristics and
M. Ghassemi und treatment and disposal of
T.V. Leshendonk industrial wastes containing
hexachlorobenzene
J.Hazardous Mat.,1, 343, 1977
- 16 Steinwandter, H. und Kein natürliches Vorkommen
H. Brüne von Hexachlorbenzol in der
Ökosphäre
Chemosphere 6, 77, 1977

- 17 Steinwandter, H. und H. Schlueter Experiments on lindane metabolism in plants
IV. A Kinetic investigation
Bull.Environ.Contam.Toxicol 20 (2), 174-179, 1978
- 18 Steinwandter, H. Zum Lindanmetabolismus an Pflanzen
II.Bildung von α -HCH
Chemosphere 5, 221, 1976
- 19 Eichner, M. Über Rückstandsbestimmungen von chlorierten Insektiziden und polychlorierten Biphenylen in Fischen des Bodensees, des Oberrheins und dessen Zuflüssen sowie in diesen Gewässern. 2. Mitteilung
Z. Lebensm.Unters.-Forsch. 161, 327, 1976
- 20 Laska, A.L., C.K. Bartell und J.L. Laseter Distribution of hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene in water, soil, and selected aquatic organism along lower Mississippi River, Louisiana
Bull.Environ.Contam.Toxicol. 15, 535, 1976
- 21 Greve. P.A., J. Freudenthal und S.L. Wit Potentially hazardous substances in surface waters
Sci.Total Environ. 1, 173, 1972

- 22 Amico, V.,
G. Impellizzeri,
G. Oriente,
M. Piatelli,
S. Sciuto und
C. Tringali
Levels of chlorinated hydrocarbons in marine animals from the Central Mediterranean Mar. Pollut. Bull 10(10), 282-284, 1979
- 23 Veith, G.D.,
D.W. Kuehl,
E.N. Leonard,
F.A. Puglisi und
A.E. Lemke
Fish, wildlife, and estuaries- Polychlorinated biphenyls and other organic chemical residues in fish from major watersheds of the United-States, 1976 Pestic. Monit. J., 13(1), 1-11 1979
- 24 Niimi, A.J.
Hexachlorobenzene (HCB) levels in Lake Ontario salmonids Bull. Environ. Contam. Toxicol. 23 (1/2), 20-24, 1979
- 25 Huschenbeth, E.
Überwachung der Speicherung von chlorierten Kohlenwasserstoffen im Fisch Arch. Fischereiwiss., 28, 173, 1977
- 26 Schaefer, R.G.,
W. Ernst, H. Goerke
und G. Eder
Residues of chlorinated hydrocarbons in North Sea animals in relation to biological parameters Ber. dt. wiss. Komm. Meeresforsch. 24, 225, 1976

- 27 Noren, K. und
G. Rosen
and more recent publ.
concerning PCB's and
OCP's
Var föda 28, 2, 1976
- 28 Johnson, J.L.,
D.L. Stalling und
J.W. Hogan
HCB residues in fish
Bull.Environ.Contam.Toxicol.
11, 393, 1974
- 29 Koeman, J.H.,
M.C. TenNoever,
DeBrauw und
R.H. De Vos
Chlorinated biphenyls in
fish, mussels and birds from
the river Rhine and the Nether-
lands coastal area
Nature 221, 1126, 1969
- 30 Morita, M. und
S. Oishi
Clearance and tissue dis-
tribution of hexachlorbenzene
in rats
Bull.Environ.Contam.Toxicol
14, 313, 1975
- 31 Morita, M.,
S. Mimura, G. Ohi,
H. Yagyu und
T. Nishizawa
A systemic determination of
chlorinated benzenes in human
adipose tissue
Environ.Pollut. 9, 175, 1975
- 32 Brevik, E.M.
Organochlorines in fish and
crabs from the Kristiansand
Fjord in Norway
Nord.Vet.Med., 30(9),
375-379, 1978

- 33 Langner, H.J. und
R. Goeltenboth
Der Gehalt an chlorierten
Kohlenwasserstoff-Pestizid-
en im Körperfett einiger
Meeressäuger und Pinguine
aus dem Zoo Berlin
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr.
92 (10). 202-204, 1979
- 34 Cromartie, E.,
W.L. Reichel,
L.N. Nocke,
A.A. Belisle,
T.E. Kaiser,
T.G. Lamont,
B.M. Mulhern,
R.M. Prouty und
D.M. Swineford
Residues of organochlorine
pesticides and polychlori-
nated biphenyls and autopsy
data for bald eagles
Pestic.Monit.J. 9, 11, 1975
- 35 Vos, J.G.,
P.F. Botterweg,
J.J.T.W.A. Strik,
J.H.Koeman
Experimental studies with
HCB in birds
TNO-Nieuws 27, 599, 1972
- 36 Fuchs, P.,
J. Rooth und
R.H. de Vos
Residue levels of persistent
chemicals in birds of prey
and owls in the Netherlands
in the period from 1965-1971
TNO-Nieuws 27, 532, 1972
- 37 Koeman, J.H.,
H.C.W. van Velzen-Blad
R. de Vries und
J.G. Vos
Effects of PCB and DDE in
cormorants and evaluation
of PCB residues from ex-
perimental study
J.Reprod.-Fert. 19 (Suppl.),
353, 1973

- 38 Gilbertson, M. und
L.M. Reynolds HCB in the eggs of Common
Terns in Hamilton Harbour
Ontario
Bull.Environ.Contam.Toxicol.
7, 371, 1972
- 39 Gilbertson, M. und
G.A. Fox Pollutant-associated
embryonic mortality of Great
Lakes herring gulls
Environ.Pollut. 12, 211, 1977
- 40 Polzhofer, K.,
K. Figge und
K. Ballschmiter Organochlorpestizide und
polychlorierte Biphenyle in
Vogeleiern von den Falkland-
inseln und aus Norddeutsch-
land
Environ.Pollut. 20 (4), 247-
269, 1979
- 41 Conrad, B. Gefährdung der einheimischen
Vogelwelt durch chlorierte
Kohlenwasserstoffe
Kleintier-Praxis 23 (2), 87-
94, 1978
- 42 Vogt, H.,
H.G. Torges und
L. Steinke Beeinflußt ein Hexachlor-
benzolgehalt im Legehennen-
futter die Leistungen der
Tiere?
Archiv für Geflügelkunde
5, 184, 1975

- 43 Müller, W.F. und F. Korte Beiträge zur ökologischen Chemie CXVII. Polychlorierte Biphenyle und Hexachlorbenzol in Umweltproben aus dem Süddeutschen Raum Chemosphere 6, 95, 1976
- 44 Koss, G. und D. Manz Residues of hexachlorobenzene in wild mammals of Germany Bull.Environ.Contam.Toxicol. 15, 189, 1976
- 45 Dejonckheere, W., W.Steurbaut und R.H. Kips Résidus de pesticides dans la viande et les produits de viande Revue Agricult. 28, 1541, 1975
- 46 Bauer, S. Untersuchungen über Rückstandsbildung und Konzentrationsverhältnisse von Hexachlorbenzol im Blut und in verschiedenen Geweben von schlachtbaren Nutztieren Dissertation, München 1979
- 47 Booth, N.H. und J.R. McDowell Toxicity of hexachlorbenzene and associated residues in edible animal tissues J.Amer.Vet.Med.Ass. 166, 591, 1975
- 48 Dejonckheere, W., W. Steurbaut und R.H. Kips Residues of quintozen, hexachlorobenzene, dichloran and pentachloroaniline in soil and lettuce Bull.Environ.Contam.Toxicol. 13, 720, 1975

- 49 Smelt, J.H. Hexachlorobenzene in soils and crops after soil treatment with pentachloronitrobenzene
Agric. Environ. 1, 65, 1974
- 50 Häfner, M. Quintozen- und Hexachlorbenzol-Rückstände bei Gemüsekulturen
Gesunde Pflanzen 28, 93, 1976
- 51 Häfner, M. Über die Aufnahme von Hexachlorbenzol und Pentachlornitrobenzol durch Gemüsepflanzen
Gesunde Pflanzen 27, 169, 1975
- 52 Häfner, M. Untersuchungen zur Kontamination von Gartenerden und landwirtschaftlich genutzten Böden mit Hexachlorbenzol und Pentachlornitrobenzol
Gesunde Pflanzen 27, 81, 1975
- 53 Johnson, R.D. und D.D. Manske Pesticides and other chemical residues in total diet samples (XI)
Pestic. Monit. J. 11 (3), 116-131, 1977
- 54 Yang, R.S.H., W.F. Müller, L. Golberg und K.F. Coulston Laboratory sources of hexachlorobenzene contamination
Toxicol. Appl. Pharmacol. 37, 135, 1976

- 55 Kallweit, P. Rückstandsuntersuchungen
auf Organochlorpestizide in
Einzelfuttermitteln
Ber.Ldw. 55 (4), 779-784,
1977/1978
- 56 Acker, L. und Chlorkohlenwasserstoffe im
E. Schulte menschlichen Fett
Naturwiss. 61, 32, 1974
- 57 Acker, L. und Über das Vorkommen von
E. Schulte chlorierten Biphenylen und
Hexachlorbenzol neben chlorier-
ten Insektiziden in Human-
milch und menschlichem Fett-
gewebe
Naturwiss. 57, 497, 1970
- 58 Acker, L. und Über das Vorkommen chlorierter
E. Schulte Kohlenwasserstoffe im mensch-
lichen Fettgewebe und in
Humanmilch
Dtsch.Lebensmitt.Rdsch.
66, 385, 1970
- 59 Burns, J.E. und Hexachlorobenzene contamination:
F.M. Miller Its effects in a Louisiana
population
Arch.Environ.Health 30, 44, 1975
- 60 Rappl, A. und Zur Kontamination von Mutter-
W. Waiblinger milch mit Rückständen
chlorierter Kohlenwasserstoffe
Dtsch.Med.Wschr. 100, 228-238,
1975

- 61 Stacey, C.I. und
B.W. Thomas
Organochlorine pesticide re-
sidues in human milk, Western
Australia - 1970-71
Pestic.Monit.J. 9, 64, 1975
- 62 Luquet, F.M.,
J. Goursaud und
J. Casalis
Pollution des laits de femme
par les residus de pesticides
organochlorées en France
Le-Lait 55, 207, 1975
- 63 Dejonckheere, W.,
W. Steurbaut,
R. Verstraeten und
R.H. Kips
Residues of organochlorine
pesticides in human fat in
Belgium
Toxicol.Eur.Res. 1 (2), 93-98
1979
- 64 Richter. E. und
A. Schmid
Hexachlorbenzolgehalt im Voll-
blut von Kindern
Arch.Toxicol. 35, 141-147,
1976
- 65 Siyali, D.S.
HCB and other organochlorine
pesticides in human blood
Med.J.Aust. 2, 1063, 1972
- 66 Anon.
Verordnung zur Neufassung der
Verordnung über Anwendungsver-
bote und -beschränkungen für
pflanzenschutzmittel vom
31.Mai 1974
BGBl.I S.1204 i.d.F. vom 7.4.1977
BGBl.I S.564

- 67 Anon. Verordnung über Höchstmengen an DDT und anderen Pestiziden in oder auf Lebensmitteln tierischer Herkunft (Höchstmengenverordnung, tierische Lebensmittel) vom 15. November 1973
BGBI. I S 1710 i.d.F. der Anpassungsverordnung vom 16.5.1975
BGBI. I S. 1281 und der 1. ÄndV vom 29.8.1978 BGBI.I S. 1525
- 68 Anon. Verordnung über Pflanzenbehandlungsmittel in oder auf Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft und Tabakerzeugnissen
Höchstmengenverordnung Pflanzenbehandlungsmittel vom 13.6.1978
BGBI.I S. 718
- 69 Anon. Futtermittelverordnung vom 16.6.1976
BGBI.I S. 1497
- 70 Savitskii, I.V. The basis for determining safe permissible concentrations of hexachlorobenzene and pentachloronitrobenzene in the air
Vopr.Prom. i Sel'skokhoz.Toksikol. Kievsk.Med.Inst. 158-173, 1964
- 71 Gralla. E.J.,
R.W. Fleischman,
Y.K. Luthra,
M. Hagopian,
J.R. Baker,
H. Esber und
W. Marcus Toxic effects of hexachlorobenzene after daily administration to beagle dogs for one year
Toxicol.Appl.Pharmacol. 40, 227, 1977

- 72 Allen, J.R.,
W.A. Hargraves,
M.T.S. Hsia und
F.S.D. Lin
Comparative toxicology of
chlorinated compounds on
mammalian species
Pharmac.Ther. 7, 513-547 1979
- 73 Courtney, K.D.
Hexachlorbenzene (HCB):
A review
Environ.Res. 20 (2), 225-266,
1979
- 74 Cabral, J.R.P.,
T. Mollner,
F. Raitano und
R. Shubik
Carcinogenesis of hexachloro-
benzene in mice
Int.J.Cancer 23, 47-51, 1979
- 75 Villeneuve. D.C. und
W.H. Newsome
Toxicity and tissue levels in
rat and guinea pig following
acute hexachlorobenzene ad-
ministration
Bull.Environ.Contam.Toxicol.
14, 297, 1975
- 76 Grant, D.L.,
W.E.J. Phillips und
G.V. Hatina
Effect of hexachlorobenzene
on reproduction in rat
Arch.Environ.Contam.Toxicol.
5 (2), 207-216, 1977
- 77 Kimbrough, R.D. und
R.E. Linder
The toxicity of technical
hexachlorobenzene in the
Sherman strain rat. A pre-
liminary study
Res.Comm.Chem.Pathol.Pharmacol.
8, 653, 1974

- 78 Kuiper-Goodman, T.,
D.L. Grant,
C.A. Moodie,
G.O. Korsrud und
I.C. Munro
Subacute toxicity of hexa-
chlorobenzene in the rat
Toxicol.Appl.Pharmacol.
40, 529, 1977
- 79 Cabral, J.R.P.,
P. Shubik,
T. Mollner und
F. Raitano
Carcinogenic activity of
hexachlorobenzene in hamsters
Natur 269, 510, 1977
- 80 Ivanov, E.,
L. Krustev und
D. Adjarov
Studies on the mechanism of
changes in serum and liver
gamma glutamyl transpeptidase
activity. II Experimental hexa-
chlorobenzene porphyria in
rabbits
Enzyme 21(1), 8-20, 1976
- 81 Vos. J.G.,
H.A. Breeman und
H. Benschop
The occurrence of the fungicide
HCB in wild birds and its
toxicological importance.
A preliminary communication
Meded.Fac.Landbouw.Rijk.
33, 1263, 1968
- 82 Schmid, R.
Cutaneous porphyria in Turkey
New Engl.J.Med. 263, 397, 1960
- 83 Cam, C. und
G. Nigogosyan
Acquired toxic porphyria
cutanea tarda due to HCB
J.Amer.Med.Ass. 183, 88, 1963

- 84 Burns, J.E.,
F.M. Miller,
E.D. Gomes und
R.A. Albert
Hexachlorobenzene exposure
from contaminated DCPA in
vegetable spramen
Arch.Environ.Health 29, 192
1974
- 85 Dogramaci, I.
Porphyria Turcica
Turkish J.Pediat. 4, 129-132,
1962
- 86 Dogramaci, I.
Porphyrias and porphyrin
metabolism, with special re-
ference to porphyria in child-
hood
Adv.Pediat. 13, 11-63, 1964
- 87 Peters, H.A.,
S.A.M. Johnson,
S. Cam, S. Oral,
Y. Müftü und
T. Ergene
Hexachlorobenzene-induced por-
phyria: Effect of chelation
on the disease, porphyrin and
metal metabolism
Amer.J.Med.Sci. 251, 104, 1966
- 88 Taljaard, J.J.F.,
B.C. Shanley,
W.M. Deppe und
S.M. Joubert
Porphyrin metabolism in ex-
perimental hepatic siderosis
in the rat
II. Combined effect of iron
overload and hexachlorobenzene
Brit.J.Haematol. 23, 513, 1972
- 89 Taljaard, J.J.F.,
B.C. Shanley,
W.M. Deppe,
S.M. Joubert
Porphyrin metabolism in ex-
perimental hepatic siderosis
in the rat
III. Effect of iron overload
and hexachlorobenzene on liver
haem biosynthesis
Brit.J.Haematol. 23, 587, 1972

- 90 De Matteis, F.,
B.E. Prior und
C. Rimington
Nervous and biochemical
disturbances following
HCB intoxication
Nature 191, 363, 1961
- 91 Iatropoulos, M.J.,
W. Hobson,
V. Knauf und
H.P. Adams
Morphological effects of
hexachlorobenzene toxicity
in female rhesus monkey
Toxicol.Appl.Pharmacol.
37, 433, 1976
- 92 Kan, C.A.,
J.J.T.W.A. Strik und
J.H. Koeman
Semi-chronic toxicity of
 β -hexachlorocyclohexane
(β -HCH) and hexachlorobenzene
(HCB) in laying hens
Med.Fac.Landbouww.Rijksuniv.
Gent 44(2), 965-973, 1979
- 93 Iwanow, E.,
M. Hlebarowa,
L. Krustev,
P. Dimitrov,
V. Orbetzova,
P. Nenov,
A. Kirjakov und
A. Tsontscheva
Biochemische und histomorpho-
logische Veränderungen bei der
experimentell durch Hexachlor-
benzol hervorgerufenen
Porphyrie
Acta Hepato-Gastroenterol.
20, 39-48, 1973
- 94 Grant, D.L.,
F. Iverson,
G.V. Hatina und
D.C. Villeneuve
Effects of hexachlorobenzene
on liver porphyrin levels
and microsomal enzymes in
the rat
Toxicol.Appl.Pharmacol. 29,
101, 1974

- 95 Kuiper-Goodman, T., D. Grant, G. Korsrud, C.A. Moodie und I.C. Munro Toxic effects of hexachloro-
benzene in the rat:
Correlations of electron
microscopy with other toxic
parameters
Toxicol.Appl.Pharmacol.
29, 101, 1974
- 96 Vos, J.G., van Logten, M.J., J.G. Kreeftenberg und W. Kruizinga Hexachlorobenzene-induced
STIMULATION of the humoral
response in rats
Ann.NY Acad.Sci. 320, 535.550
1979
- 97 Vos, J.G., van Logten, M.J., P.A. Kreeftenberg, P.A. Steerenberg und W. Kruizinga Effect of hexachlorobenzene
on the immune system of rats
following combined pre- and
postnatal exposure
Drug Chem.Toxicol. 2(1/2),
61-76, 1979
- 98 Loose, L.D., K.A. Pittman, K.F. Benitz und J.B. Silkworth Polychlorinated biphenyl and
hexachlorobenzene induced
humoral immun suppression
J.Reticuloendothel.Soc.
22(3), 253-271, 1977
- 99 Loose, L.D., K.A. Pittman, K.F. Benitz, J.B. Silkworth, W.Mueller und F.Coulston Environmental chemical-induced
immune dysfunction
Ecotoxicol.EnvIRON.Saf.
2(2), 173-198, 1978

- 100 Medline, A., HCB and rat liver
E. Bain, Arch.Pathol. 96, 61. 1973
A.J. Memon und
H.F. Habermann
- 101 Mollenhauer, H.M., Ultrastructural changes in
J.H. Johnson, liver of the rat fed
R.L. Younger und hexachlorobenzene
D.E. Clark Amer.J.Vet.Res. 36, 1777, 1975
- 102 Mollenhauer, H.M., A unique intracellular aber-
J.H. Johnson, ration related to hexa-
R.L. Younger und chlorobenzene ingestion
D.E. Clark Amer.J.Vet.Res. 37, 847, 1976
- 103 Shirai, T., Hepatocarcinogenicity of
Y. Miyata, K. Nakanishi polychlorinated terphenyl
G. Murasaki und (PCT) in ICR mice and its
N. Ito enhancement by hexachloro-
benzene(HCB)
Cancer Lett. 4 (5), 271-275,
1978
- 104 Turner, J.C. und Effect of hexachlorobenzene
R.S. Green on microsomal enzyme systems
Biochem.Pharmacol. 23, 2387
1974
- 105 Dybing, E. und Hexachlorobenzene induction
T. Aune of 2,4-diaminoanisole
mutagenicity in vitro
Acta pharmacol.et toxicol.
40, 575, 1977

- 106 Ockner, R.K. und
R. Schmid
Acquired porphyria in man
and rat due to HCB intoxication
Nature 189, 499, 1961
- 107 Simon, N.,
A. Dobozg und
G. Berko
Porphyrin metabolism and
clinical laboratory investigations in
experiments and on patients
with porphyria cutanea tarda
Arch.Klin.Exp.Dermatol.
238, 38, 1970
- 108 Rajamanickam, C.,
J. Amrutavalli,
M.R.S. Rao und
G. Padmanaban
Effect of hexachlorobenzene
on haem synthesis
Biochem.J. 129, 381, 1972
- 109 Elder, G.H.,
J.O. Evans und
S.A. Matlin
The effect of the porphyrinogenic
compound, hexachlorobenzene, on the
activity of hepatic uroporphyrinogen
decarboxylase in the rat
Clin.Sci.Molec.Med.
51, 71-80, 1976
- 110 Karlson, P.,
Gerok, W. und
W. Groß
Pathobiochemie
1.Auflage
Stuttgart: Verlag Georg Thieme
1978
- 111 Joubert, S.N.,
J.J.F. Taljaard und
B.C. Shanley
Aetiological relationship between
hepatic siderosis and symptomatic
porphyria cutanea tarda
Enzyme 16, 305, 1973

- 112 Den Tonkelaar, E.M. und G.J. van Esch
No-effect levels of organo-chlorine pesticides based on inductions of microsomal liver enzymes in shortterm toxicity experiments
Toxicolog. 2, 371, 1974
- 113 Grant, D.L., F. Iverson, G.V. Hatina und D.C. Villeneuve
Effects of hexachlorobenzene on liver porphyrin levels and microsomal enzymes in the rat
Environ.Physiol.Biochem. 4, 159, 1974
- 114 Iverson, F.
Induction of paraoxon dealkylation by hexachlorobenzene HCB and mirex
J.Agric.Food Chem. 24, 1238, 1976
- 115 Mendoza, C.E., D.L. Grant und J.B. Shields
Body burden of hexachlorobenzene in suckling rats and its effect on various organs and on liver porphyrin accumulation
Environ.Physiol.Biochem. 5, 460, 1975
- 116 Goerz, G., T. Krieg, K. Bolsen und R. Lissner
Long time HCB exposition of rats: Influence on the porphyrin excretion in the urine and on the cytochrom P-450 in the liver
Arch.Derm.Res. 259 (2), 199-206, 1977

- 117 Carlson, G.P. und
R.G. Tardiff
Effect of chlorinated
benzenes on the metabo-
lism of foreign organic
compounds
Toxicol.Appl.Pharmacol.
36, 383, 1976
- 118 Wada, O.,
Y. Yano, G. Urata
und K. Nakao
Behaviour of hepatic micro-
somal cytochromes after
treatment of mice with
drugs known to disturb
porphyrin metabolism in
liver
Biochem.Pharmacol. 17, 595, 1968
- 119 Graef, V.,
S.W. Golf und
G. Goerz
The involvement of porphyro-
genic steroids in the develop-
ment of experimental porphyria
Experienta 36, 1090-1094,
1980
- 120 Ippen, H.,
D. Aust und
G. Goerz
Klinisch-experimentelle Unter-
suchungen zur Entstehung der
Porphyrien
III. Wirkung einiger Steroid-
Hormone auf die "latente
Hexachlorbenzol-Porphyrrie" der
Ratte
Arch.Dermatol.Forsch. 245,
305-317, 1972
- 121 Grant, D.L.,
J.B.Shields und
D.C. Villeneuve
Chemical (HCB) porphyria:
Effect of removal of sex organs
in the rat
Bull.EnvIRON.Contam.Toxicol.
14, 422 1975

- 122 Rüsse, M. und
B. Kocks
Anwendung der Hormone bei
Kleintieren
Der Praktische Tierarzt
60.Jahrgang 1979
Heft 7, 592-597
- 123 Neilson, I.R.,
M.A. Singer und
G.S. Marks
Association between the
membrane-fluidizing
properties and porphyrin-
inducing activity of alfa-
xolone and related steroids
Mol.Pharmacol. 18, 144-147
1980
- 124 Neilson, I.R.,
F.T. Chaykowski,
N.A. Singer und
G.S. Marks
A possible association bet-
ween membrane fluidizing
properties and porphyrin-
inducing of drugs
Biochem.Pharmacol. 28,
3589-3593, 1979
- 125 Parke, D.V. und
R.T. Williams
The metabolism of Halogeno-
benzene
a) Penta- and Hexachloro-
benzenes
b) further observations on
1:3:5-Trichlorobenzene
Biochem.J. 74, 5, 1960
- 126 Koss, G. und
W. Koransky
Studies on the toxicology
of hexachlorobenzene
I.Pharmacokinetics
Arch.Toxicol. 34, 203, 1975

- 127 Albro, P.W. und
R. Thomas
Intestinal absorption of
hexachlorobenzene and hexa-
chlorocyclohexane isomers in
rats
Bull.Environ.Contam.Toxicol.
12 (3), 289-294, 1974
- 128 Avrahami, M. und
R.T. Steele
HCB: III The effect of
feeding HCB to growing
chickens
NZ J.Agric.Res. 15, 489, 1972
- 129 Iatropoulos, M.J.,
A. Milling,
W.F. Müller,
G. Nohynek,
K. Rozman,
F. Coulston und
F. Korte
Absorption, transport and
organotropism of dichlor-
biphenyl (DCB), dieldrin, and
hexachlorobenzene (HCB) in
rats
Environ.Res. 10, 384, 1975
- 130 Engst, R.,
R.M. Macholz und
M. Kujawa
Metabolism of hexachloro-
benzene (HCB) in rats
Bull.Environ.Contam.Toxicol.
16, 248, 1976
- 131 Koss, G.,
W. Koransky und
K. Steinbach
Studies on the toxicology
of hexachlorobenzene
II. Identification and deter-
mination of metabolites
Arch.Toxicol.35, 107, 1976
- 132 Rozman, K.,
W. Mueller,
M. Iatropoulos,
F. Coulston und
F. Korte
Ausscheidung, Körperverteil-
ung und Metabolisierung von
Hexachlorbenzol nach oraler
Einzeldosis in Ratten und Rhesus-
affen
Chemosphere 5, 289, 1975

- 133 Lui, H. und
G.D. Sweeney
Hepatic metabolism of hexa-
chlorobenzene in rats
FEBS Lett. 51, 225, 1975
- 134 Renner, G.,
K.P. Schuster,
H.B. Kuhnhen und
H.D. Stachel
Isolierung von Stoffwechsel-
produkten der Pestizide
Hexachlorbenzol und Pentachlor-
nitrobenzol aus Harn und
Faeces von Ratten und
Kaninchen
Chemosphere 7 (12), 943-947,
1978
- 135 Jansson, B. und
A. Bergman
Sulfur-containing derivatives
of hexachlorobenzene (HCB)-
metabolites in the rat
Chemosphere 7(3), 257-268,
1978
- 136 Richter, E.,
J.P. Lay,
W. Klein und
F. Korte
Enhanced elimination of hexa-
chlorobenzene in rats by light
liquid paraffin
Chemosphere 6, 357, 1977
- 137 Rozman, K.,
W.F. Mueller,
F. Coulston und
F. Korte
Chronic low dose exposure
of rhesus monkeys
to hexachlorobenzene (HCB)
Chemosphere 7 (2), 177-184
1978
- 138 Avrahami, M. und
R.T. Steele
HCB: Accumulation and elimi-
nation of HCB in sheep after
oral dosing
NZ J.Agr.Res. 15, 476, 1972

- 139 Avrahami, M. und
D.A. White
Rapid elimination of
pentachloronitrobenzene
and metabolite from sheep
fat
NZ J.Exp.Agr. 4, 299, 1976
- 140 Hansen, L.G.,
J. Simon,
S.B. Dorn und
R.H. Teske
Hexachlorobenzene distri-
bution in tissues of swine
Toxicol.Appl.Pharmacol.
51 (1), 1-7, 1979
- 141 Simon, G.S.,
E.J. Kuchar,
H.H. Klein und
J.F. Borzelleca
Distribution and clearance
of pentachloronitrobenzene in
chickens
Toxicol.Appl.Pharmacol.
50 (3), 401-406, 1979
- 142 Koch, K.
Untersuchungen über das Ver-
teilungsmuster von Hexachlor-
benzol bei Legehennen
Dissertation, München, 1977
- 143 Schmid, M.
Untersuchungen über die Rück-
standsbildung von Hexachlor-
benzol im Hühnerei
Dissertation, München, 1977
- 144 Courtney, K.D. und
J.E. Andrews
Mobilization of hexachloro-
benzene during gestation
Tox.Lett.3 (6), 357-361, 1979
- 145 Mendoza, C.E.,
B.T. Collins,
J.B. Shields und
G.W. Laver
Effects of hexachlorobenzene
or hexabromobenzene on body
and organ weights of pre-
weanling rats after a reciprocal
transfer between the treated
and control dams
J.Agric.Food Chem.26(4),
941-945, 1978

- 146 Yang, R.S.H.,
K.A. Pittman,
D.R. Rourke und
V.B. Stein
Pharmacokinetics and metabolism of hexachlorobenzene in the rat and the rhesus monkey
J.Agric.Food Chem. 26 (5).
1076-1083, 1978
- 147 Koss, G. und
W. Koransky
Pentachlorophenol in different species of vertebrates after administration of hexachlorobenzene and pentachlorobenzene in: Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and environmental toxicology
Ed.: RAO, K.R.
Plenum Press, New York and London
1978
- 148 Kan, C.A. und
L.G.M.T. Tuinstra
Accumulation and excretion of certain organochlorine insecticides in broiler breeder hens
Agric.Food Chem. 24, 775, 1976
- 149 Avrahami, M.
Hexachlorobenzene IV. Accumulation and elimination of HCB in pigs after oral dosing
New Zeal.J.Exp.Agr. 3, 285, 1975
- 150 Sundlof, S.F.,
L.G. Hansen und
M.E. Welborn
Pharmacokinetics of hexachlorobenzene in male laboratory beagles
Pharmacologist 18, 149, 1976

- 151 Ippen, H. Allgemeinsymptome der späten
Hautporphyrie (Porphyria
cutanea tarda) als Hinweis für
deren Behandlung
Dtsch.Med.Wschr. 86, 127, 1961
- 152 Peters, H.A. Hexachlorobenzene poisoning
in Turkey
Fed.Proc. 35, 2400-2403, 1976
- 153 Vizethum, W., Influence of chloroquine
D. Dahlmann, K. Bolsen (Resochin^R) in hexachlorobenzene
und G. Goerz (HCB) induced porphyria of
the rat
Arch.Derm.Res. 264(1), 125
1979
- 154 Hembry, F.G., Removal of HCB contamination
L.I. Smart und from beef cattle
J.M. Dixon Louisiana Agric. 19, 6, 1976
- 155 Villeneuve, D.C., Effect of food deprivation on
M.J. van Logten, low level hexachlorobenzene
E.M. Den Tonkelaar exposure in rats
P.A. Greve, J.G. Vos Sci. Total Environ. 8, 179-186
G.J.A. Speijers und 1977
G.J. van Esch
- 156 Villeneuve, D.C., The effects of phenobarbital and
W.E. Phillips, carbon tetrachloride on the
L.G. Panopio, rate of decline of body
C.E. Mendoza, burdens of HCB in the rat
G.V. Hatina und Arch.Environ.Contam.Toxicol.
D.L. Grant 2, 243, 1974

- 157 Goerz, G.,
N. Sick,
W. Vizethum,
R. Lissner und
T. Krieg
Einfluß von p-Aminobenzoe-
säure auf die hexachlorbenzol-
induzierte Porphyrie der Ratte
Arzneim.Forsch. 30-I(5),
817-821, 1980
- 158 Rozman, K.
Persönliche Mitteilung, 1980
- 159 Richter, E.,
J.P. Lay,
W. Klein und
F. Korte
Paraffin-stimulated excretion
of 2,4,6,2',4'-pentachloro-
bi-(¹⁴C) -phenyl by rats
Toxicol.Appl.Pharmacol.
50(1), 17-13, 1979
- 160 Fortmeyer, H.P. und
V. Skrdlik
Über eine neue Diät zur prä-
und postoperativen Ernährung
von Hunden
Z.Versuchstierk. 21, 196-204
1979
- 161 Schmidl, M.
Laboruntersuchungen für die
Diagnose und Verlaufskontrolle
Boehringer Mannheim GmbH
Mannheim 1978
- 162 Villeneuve, D.C.
The effect of food restriction
on the redistribution of hexa-
chlorobenzene in the rat
Toxicol.Appl.Pharmacol. 31, 313,
1975
- 163 Dixon, W.J. und
M.B. Brown
BMDP-79
Biomedical Computer Programs
P-Series
University of California Press,
Berkeley, Los Angeles, London 1979

- 164 Thomas, J.E. An improved cannula for
gastric and intestinal fistulas
Proc.Soc.Exper.Biol.and Med.
46, 260, 1941
- 165 Lefaivre, J., Re-entrant cannula and
C. Dardillat, automatic sampling for bile
M. Debarre und study in the preruminant calf
P. Thievend Ann.Rech.Vét. 10 (2/3),
500-502, 1979
- 166 Sambrook, I.E. Studies on the digestion and
absorption of carbohydrate
and fat and on the flow and
composition of bile in the
growing pig
Shinfield, England: University
of Reading; 1978, 195 p Thesis
- 167 Dinstl, K. Ein neues Verfahren zur zuver-
L.Lehr und lässigen Dauerkanülierung des
R. Schiessel Ductus choledochus am Hund
Res.exp.Med. 165, 297-300, 1975
- 168 Schlepper, J., Composition and lithogenity
E. Kraas und of bile in rats and dogs after
R. Gastauer long term application of
clanobutin
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.
Pharmacol. 302 (Suppl),
246 1978
- 169 Scheunert, A. und Lehrbuch der Veterinärphysio-
A. Trautmann logie
6.Auflage, 1976
Berlin:Verlag Paul Parey, 1976

Abschließend möchte ich Herrn Prof.Dr.N.Weger für die Überlassung des Themas danken.

Herrn Prof.Dr.W.Kraft danke ich für die an seinem Labor durchgeführten Blutuntersuchungen.

Bei Herrn Prof.Dr.D.Hegner bedanke ich mich für die Anleitung bei der Abfassung der Dissertationsschrift.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr.E.Richter für seine unermüdliche Unterstützung und die wertvollen Anregungen bei der Durchführung dieser Arbeit.

Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Prof.Dr.F.Korte vom Institut für Ökologische Chemie der GSF für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Geburtstag: 08. 11. 1951

Geburtsort: Waldsee/Krs. Ravensburg

Eltern: Dr.med.Clemens Rembold
Arzt für Allgemeinmedizin
Ingeborg Rembold, geb.Strasmann

Schul Ausbildung: nach Besuch der Volksschule in
Waldsee, 1962 Übertritt in das
Progymnasium Bad Waldsee, 1968
Übertritt in das math.nat.
Gymnasium Kolleg der Schulbrüder
Illertissen/Bayern
Abitur 1972

Grundwehrdienst: 1972 bis 1973

Studium: ab Wintersemester 1974 Studium der
Chemie an der Ludwig-Maximilians-
Universität München
ab Wintersemester 1975 Studium der
Veterinärmedizin an der Tierärztl-
ichen Fakultät der Ludwig -Maximi-
lians-Universität München

Staatsexamen: 15. 01. 1981 in München.

Approbation: 12. 02. 1981

